Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

162. BAND, 3. HEFT

MIT 10 ABBILDUNGEM IM TEXT

(ABGESCHLOSSEN AM 19. JUNI 1958)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

J. F. BERGMANN · MÜNCHEN

1958

Z. anal. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901
Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 130131

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 162 **Inhaltsverzeichnis** Heft 3

Originalabhandlungen

Seite

Hahn-Weinheimer, P., Zur Bestimmung von Edelmetallspuren in Gesteinen. Mit 1 Textabbildung 161

Neeb, K. H., und W. Gebauhr, Flammenphotometrische Bestimmung geringer Kaliummengen in Natrium und seinen Verbindungen nach Anreicherung mittels Tetraphenylborammonium. Mit 3 Textabbildungen 167

Reuter, B., und J. Siewert, Ein genaues und schnelles Verfahren zur kombinierten direkten Bestimmung der Oxydationsstufe des Vanadins und des Vanadingehalts von Metall-Vanadin-Sauerstoffverbindungen 175

Erdey, L., und L. Káplár, Maßanalytische Ascorbinsäurebestimmungen mit Variaminblau als Indicator 180

Morvay, J., J. Császár und M. Almásy, Über die Reaktion des Adrenalins mit Dikalium-Quecksilber(II)-tetrarhodanid. Identifizierung des entstehenden Adrenochroms auf spektroskopischem und papierchromatographischem Wege. Mit 2 Textabbildungen 187

Feldheim, W., und M. Czerny, Zum papierchromatographischen Verhalten einiger Abbauprodukte des Vitamins C 193

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Mineralogischen Institut der Universität Frankfurt/M.

Zur Bestimmung von Edelmetallspuren in Gesteinen

Von

PAULA HAHN-WEINHEIMER

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 8. Februar 1958)

Im Rahmen einer umfangreicheren geochemischen Arbeit* über ultrabasische und basische Gesteine wurden bei der Suche nach spezifischen Leitelementen auch die Edelmetalle mit einbezogen. Der Nachweis und die quantitative Bestimmung der Edelmetalle sollte klären, ob diese Elemente dazu geeignet sind, Unterschiede in tektonisch verschieden stark beanspruchten Gesteinskomplexen und Erzpartien festzustellen.

Die klassische Bestimmungsweise von Edelmetallen in Gesteinen und Erzen war bisher die mikro-dokimastische Methode (G. LUNDE u. M. JOHNSON[5]). Durch Verbesserung dieses Verfahrens konnten V. M. GOLDSCHMIDT u. C. PETERS[2] eine Nachweisgrenze von 10^{-5}% für Rh, Pd und Pt erreichen. Auf spektrochemischem Wege gelang C. E. HARVEY[3] im Gleichstrombogen ohne Anreicherung der Nachweis von 10 ppm.

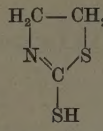
Da einerseits das Niederschmelzen mit Blei umgangen werden sollte, und andererseits wegen der unzureichenden spektrochemischen Nachweisempfindlichkeit der Edelmetalle auf ein Anreicherungsverfahren nicht verzichtet werden konnte, wurde im Laufe der Untersuchung von etwa 100 Gesteinsproben eine Methode zur Anreicherung der Edelmetalle mit Hilfe organischer Fällungsreagentien entwickelt. Die quantitative Ermittlung erfolgte anschließend auf spektrochemischem Wege.

Auswahl des Fällungsreagenses zur Anreicherung

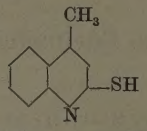
Von der großen Anzahl organischer Fällungsreagentien, die zur Anreicherung von Ru, Rh, Os, Ir, Pd, Pt, Au in Betracht kamen, wurden zunächst 8-Hydroxychinolin, Dithizon, N-substituierte Dithiocarbaminate (n- und t-Carbat) und 2-Mercaptobenzthiazol näher untersucht. Sie alle entsprachen nicht den gewünschten Anforderungen, und auch weitere heterocyclische Mercaptoverbindungen besaßen nicht die Empfindlichkeit der entsprechenden Selenverbindungen, eine Beobachtung, die mit der von P. KRAUSE[5] übereinstimmt.

* Habilitationsschrift P. HAHN-WEINHEIMER, Frankfurt/M. 1957.

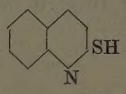
Folgende Verbindungen wurden auf ihre Empfindlichkeit gegenüber den Ionen von Ru^{III}, Rh^{III}, Pd^{II}, Os^{IV}, Ir^{III}, Pt^{IV}, Au^{III} unter verschiedenen Fällungsbedingungen geprüft:



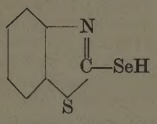
2-Mercapto-thiazolidin



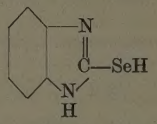
2-Mercapto-lepidin



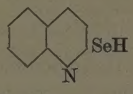
2-Mercapto-chinolin



Benzthiazol-selenol-2



Benzimidazol-selenol-2



Chinolin-selenol-2.

Die Selenolverbindungen erwiesen sich als viel empfindlicher. Um unter den 3 Selenolverbindungen die geeignetste und empfindlichste zu finden, wurde jeweils 1 ml einer Pt-Salzlösung in Reaktion gebracht. Über Einzelheiten der Fällung unterrichtet Tab. 1.

Tabelle 1. *Nachweisempfindlichkeit von Platin mit organischen Selenverbindungen*

Organisches Fällungsreagens	Konzentration des Fällungsmittels	Konzentration der Fällungslösung μg Pt/ml	Reaktion der Fällungslösung	Niederschlagsbildung	Extraktion m it Chloroform
Benzthiazol-selenol-2	0,125 m in 1 n NaOH-Lösung	2	alkal. Seignettesalzlösung	n. längerem Stehen gelblicher Niederschlag	hellgelbe Lösung
Benzimidazol-selenol-2	0,125 m in Alkohol	2	$\sim$ 2 n salzsauer	rötlicher Niederschlag	orangefarbene Lösung
Chinolinselenol-2	0,125 m in 8 n Salzsäure	2	$\sim$ 8 n salzsauer	sofort orangefarbener Niederschlag	orangefarbene Lösung
Chinolonselenol-2	0,125 m in 8 n Salzsäure	0,009	$\sim$ 8 n salzsauer	vereinzelt orangefarbene Flokken nach längerem Stehen	gelbe Lösung

Bei der Konzentration von 0,009 μg Pt/ml wurde mit Benzthiazol-selenol-2 und Benzimidazol-selenol-2 keine Reaktion erzielt.

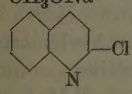
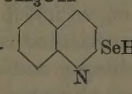
Von diesen Substanzen stellt das Chinolinselenol-2 in 8 n Salzsäure das empfindlichste Reagens gegenüber den genannten Edelmetallionen

dar. Auch mit Ru, Ir und Os erfolgt Reaktion, sofern deren Lösungen bei p_H 3,5 mit Hydroxylaminchlorhydrat zu Ru^{III}, Os^{IV} und Ir^{III} reduziert werden. Die geringe Selektivität gegenüber den Edelmetallen ist für die nachfolgende spektrochemische Bestimmung von Vorteil, weil sie alle in einer Aufnahme erfaßt werden können. Es lassen sich mit Chinolinselenol-2 noch 0,002 μg Pt als innerkomplexe Edelmetallverbindung mit Chloroform aus der wäßrigen salzsauren Lösung extrahieren. Infolge der geringen Dissoziation der gefällten Innerkomplexverbindungen in wäßrigen Lösungsmitteln und der hohen Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln, besonders Chloroform, werden die Innerkomplexverbindungen quantitativ in das Chloroform übergeführt, was durch spektrochemische Kontrollaufnahmen der eingeengten chloroformischen und wäßrigen Schicht bewiesen worden ist. Durch die Extraktion wird somit die Empfindlichkeit des Nachweises erheblich gesteigert.

Die günstigen Fällungsbedingungen in stark salzsaurer Lösung waren besonders vorteilhaft, weil nach dem Sodaaufschluß des Gesteins die Kationen in salzsaurer Lösung (im folgenden kurz als „Gesteinslösung" bezeichnet) vorlagen. Sofern der Aufschluß im Tiegel aus Sinterkorund vorgenommen wurde, war ein besonderes Aufschlußverfahren für die Edelmetalle nicht erforderlich.

Darstellung von Chinolinselenol-2

Chinolinselenol-2 wurde durch Umsetzung von 2-Chlorchinolin mit primärem Natriumselenid in Methanol erhalten. Das primäre Natriumselenid seinerseits wurde durch Einwirkung von Selenwasserstoff auf Natriummethylat erhalten, wobei der Selenwasserstoff selbst aus Aluminiumselenid durch Zersetzung mit Wasser bzw. Säure hergestellt wurde.

1. $Al_2Se_3 + 6H_2O \rightarrow 2Al(OH)_3 + 3H_2Se$
2. $CH_3OH + Na \rightarrow H + CH_3ONa$
3. $CH_3ONa + H_2Se \rightarrow CH_3OH + NaHSe$
4.  + NaHSe →  + NaCl.

Die Darstellung konnte ohne Isolierung der Zwischenstufen in derselben Apparatur ausgeführt werden.

Die Apparatur (Abb. 1) bestand aus einem Dreihalsschliffkolben von 500 ml Inhalt (*A*) zur Entwicklung des Selenwasserstoffs und einem Vierhalsschliffrührkolben (*C*) von 1 l Inhalt mit aufgesetztem Kühler, in dem die Natriummethylatlösung und daraus das primäre Natriumselenid hergestellt wurde. Außerdem konnte hierin der Hauptumsatz des Chlorchinolins zum Chinolinselenol bewerkstelligt werden. Ein Trockenturm (*B*), gefüllt mit P_2O_5, diente zum Trocknen des

Selenwasserstoffs, während von den Waschflaschen, die mit konz. Schwefelsäure beschickt waren, W_1 als Blasenzähler diente und W_2 das Eindringen von Feuchtigkeit verhinderte.

Nachdem Quetschhahn *(Q_2)* geschlossen war, wurden im Kolben *(C)* 350 ml Methanol vorgelegt und damit unter Rühren 10 g Natrium zur Reaktion gebracht. Die gebildete Natriummethylatlösung wurde auf Zimmertemperatur abgekühlt. Nach Öffnen von Q_2 wurde aus einer Stickstoffbombe ein mäßiger Strom von Stickstoff durch W_1, *A*, *B*, *C* und W_2 geleitet. Die aus W_2 austretenden Gase wurden durch einen gut ziehenden Abzug geführt. In Kolben *A* wurden zu Beginn der Reaktion 75 g Aluminiumselenid eingebracht. Nach etwa einstündigem Spülen mit Stickstoff wurde die N_2-Zufuhr unterbrochen, Quetschhahn Q_1 geschlossen und aus einem Tropftrichter langsam etwa 80 ml 2 n Salzsäure zugetropft. Nach etwa 1,5 bis 2 Std war die methanolische Lösung gesättigt und nur schwach verfärbt. Jetzt wurde Quetschhahn Q_2 geschlossen, durch den Tropftrichter *(b)* wurden 30 g 2-Chlorchinolin (hergestellt aus 2-Hydroxychinolin und PCl_5 nach FRIEDLÄNDER[1]), gelöst in 40 ml Aceton, zugegeben. Unter weiterem gutem Rühren erhitzte man noch eine Viertelstunde unter Rückfluß und versetzte nach dem Abkühlen durch den Tropftrichter *(b)* mit verd. Essigsäure bis zur schwachsauren Reaktion. Nach einigem Stehen wurde der gebildete hellbraune Niederschlag abgesaugt. Die Ausbeute war praktisch quantitativ und betrug 38 g Chinolinselenol (*Fp* 195° C). Eine Umkristallisation aus Benzol erwies sich als nicht nötig.

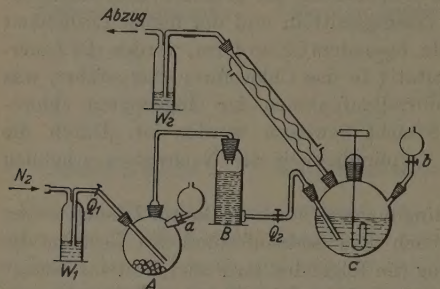


Abb. 1. Apparatur zur Darstellung von Chinolinselenol-2. *A* Reaktionskolben zur Darstellung von H_2Se; *B* Trockenturm, gefüllt mit P_2O_5; *C* Vierhalsschliffrührkolben; Q_1, Q_2 Quetschhähne; W_1 W_2 Waschflaschen, gefüllt mit konz. Schwefelsäure; *a*, *b* Tropftrichter

Zur Kennzeichnung von Chinolin-selenol-2

Um für die Ursache der gesteigerten Empfindlichkeit der Selenolverbindungen im Vergleich zur Mercaptoverbindung gegenüber Edelmetallen eine Erklärung zu finden, habe ich Ultrarotspektren im Bereich von 1—15 μ im festen Zustand von diesen beiden Verbindungen, sowie von deren Pt-Verbindungen und auch von den vorher genannten näher untersuchten Fällungsreagentien aufgenommen. 2-Mercaptochinolin und Chinolinselenol-2 zeigen sehr ähnliche Lage der Banden; eine genaue Interpretation steht allerdings noch aus. Die Absorptionskurve von Pt-Chinolinselenol-2 im UV-Gebiet zeigt, daß eine spektrophotometrische Bestimmung des Pt-Gehaltes nach Fällung und Extraktion mit Chloroform möglich ist, was durch einige orientierende Bestimmungen bestätigt worden ist. Hinsichtlich der Konstitution des Pt-Chinolinselenol-Komplexes wird man wohl in Analogie zum Aufbau der Platin-

verbindungen vom Typ $PtCl_2X_2$ annehmen dürfen, daß die Valenzen des Pt-Atoms in einer Ebene liegen und die heterocyclischen Gruppen in trans-Form angeordnet sind, eine Annahme, für die der strukturmäßige Beweis noch aussteht.

Ausführung des Anreicherungsverfahrens

Durch Chinolinselenol-2 werden außer den Edelmetallionen die Ionen folgender Elemente gefällt: $As^{III/V}$, Sb^{III}, Bi^{III}, Ge^{IV}, Cd^{II}, Hg^{II}, Cu^{II}, Fe^{III}, Mo^{VI}, W^{VI}. Hiervon können in den zur Anreicherung gelangenden „Gesteinslösungen" vorhanden sein: $As^{III/V}$, Ge^{IV}, Cu^{II}, Fe^{III}. Die Mitfällung dieser Ionen war im Hinblick auf die sich anschließende spektrochemische Bestimmung nicht von Nachteil. Gute Ergebnisse wurden erzielt, wenn man nach folgender Arbeitsvorschrift verfuhr:

Nach dem alkalischen Aufschluß von 3 g Gestein oder Erz im Sinterkorundtiegel wurde die abgeschiedene Kieselsäure sehr sorgfältig mit heißem Wasser ausgewaschen, um Verluste durch adsorptives Festhalten von Metallionen so weit als möglich zu vermeiden. Diese Fällung ließ sich bisher als einzige nicht umgehen*. Nach dem Auffüllen des Filtrats auf 250 ml wurden 100 ml (entsprechend 1,2 g Gestein) als Ausgangslösung zur Anreicherung verwendet, während ein anderer Teil der „Gesteinslösung" nach Zusatz von verdünnten Edelmetallsalzlösungen bekannten Gehaltes und Aufarbeitung nach dem gleichen Verfahren als Testmischung bei der spektrochemischen Bestimmung Verwendung fand (siehe spektrochemischer Teil). Ein weiterer Teil (10 ml) der „Gesteinslösung" diente schließlich für die Lösungsspektralanalyse bei kontinuierlicher Lösungsmittelzufuhr (modifizierte Rädchenmethode**) zur Bestimmung von Fe, Mg, Mn, Ca, Sr, Ba, Ni, Co, Cu, Cr, Ti, V, Sc. Die 100 ml Ausgangslösung wurden erhitzt und mit 5 g Hydroxylaminchlorhydrat bei p_H 3,5 unter Einleiten von N_2 reduziert. Nach Entfärbung wurden unter weiterem Einleiten und Erhitzen 10 ml konz. Salzsäure zugegeben und mit 20 ml einer 0,125 m Chinolinselenol-2-Lösung (gelöst in 8 n Salzsäure) gefällt. Nach dem Abkühlen erfolgte sogleich drei- bis viermaliges Ausschütteln mit je 15 ml Chloroform. Die chloroformische Schicht wurde abgetrennt und das Chloroform auf dem Wasserbad abdestilliert. Der verbleibende Rückstand wurde in einem Porzellanschälchen nach Zusatz von 3 Tropfen einer 25%igen $Mg(NO_3)_2$-Lösung und 5 Tropfen konz. Salpetersäure, die in einer Destillationsapparatur aus Quarzglas doppelt destilliert war, bei 500° C unter Vermeidung von Verlusten naß verascht. Diese schonende Veraschung vermeidet Verluste an flüchtigen Verbindungen (z. B. des Os), die sich bei der mikro-dokimastischen Methode nicht umgehen lassen.

Die genaue Einhaltung dieser Vorschrift erwies sich als notwendig, wenn Gesteine und Erze mit hohen Eisengehalten vorlagen; denn die ausgefällte Fe^{III}-Verbindung ist nur beschränkt in Chloroform löslich. Durch Reduktion mit Hydroxylaminchlorhydrat*** ließ sich diese Fällung zwar vermeiden, jedoch erfolgte durch Einwirkung von Luftsauerstoff beim Ausschütteln Oxydation von Fe^{II} und erneute Fällung. Da sich in letzterer Edelmetallspuren nachweisen ließen, mußte jegliche

* Versuche zum Aufschluß mit Flußsäure in Tiegeln aus Hostaflon sind im Gang.
** Siehe Habil.-Schrift.
*** Ascorbinsäure, Sulfit u. a. Reduktionsmittel waren nicht geeignet.

Niederschlagsbildung, die als Spurenfänger wirken konnte, vermieden werden. Durch obige Arbeitsvorschrift wurde das erreicht. Aus diesem Grunde schieden auch das Acetat- oder Benzoatverfahren zur Entfernung des Eisens aus. Da das gesamte veraschte Konzentrat später in der Bohrung einer Lochkohle untergebracht werden sollte, mußte deshalb auch die Fällung mengenmäßig möglichst klein gehalten werden. Bei kleineren Eisengehalten (bis zu 3%) kann das Einleiten von Stickstoff unterbleiben.

Spektrochemische Bestimmung

Das so gewonnene Anreicherungsprodukt wurde mit preßbarem Kohlepulver (United Carbon Products) 1:2 versetzt, wie üblich vermischt und in die Bohrung einer Lochkohle (Abmessungen nach Harvey) gestopft. Von allen Anregungsarten: Hochfrequenzfunken, LVA u. LVS der Multisource, Gleichstrombogen, gelang der Nachweis der Edelmetalle bis zu den größten Verdünnungen am besten im Pfeilstickerschen Abreißbogen bei einer Stromstärke I_{eff} von 1,5 A und 250 Zündungen je Minute. Die Aufnahme der Spektren wurde am Steinheil-Spektrographen GH mit großer Quarzoptik vorgenommen (2 Quarzprismen, Basislänge 75 mm). Durch dessen große Dispersion wurden störende Koinzidenzen vermieden. Wenn es sich allein um den Nachweis und Bestimmung von Platin und Gold handelte, genügte der Spektrograph Q 24 von Zeiß.

Die Auswertung erfolgte entweder mit Hilfe der spd-Skala (standard-paper-density-scale nach Addink) durch visuelle Abschätzung der Linien im Vergleich zu Linien von Proben bekannten Edelmetallgehaltes oder durch Photometrierung. In letzterem Falle diente das bei der Veraschung zugesetzte Magnesium als sog. innerer Standard.

Obwohl sich die Edelmetalle Os, Ir, Ru, Rh in den zur Untersuchung gelangenden Gesteinen und Erzen nicht nachweisen ließen, interessierte es, bis zu welchen Konzentrationen diese Elemente nach dem beschriebenen Verfahren erfaßbar sind. Ihre Nachweisgrenzen betragen einschließlich der von Platin und Palladium bei Berechnung auf 1 g Gestein oder Erz:

Os^{IV}	2,00 ppm.	Rh^{III}	0,05 ppm.
Ir^{III}	0,05 ppm.	Pt^{IV}	0,01 ppm.
Ru^{III}	0,05 ppm.	Pd^{II}	0,01 ppm.

Zum Nachweis wurden folgende Linien verwendet:

Os	2909,06; 2838,63 Å	Rh	3434,89; 3323,09 Å
Ir	2664,79; 2543,92; 3220,78 Å	Pt	3064,71; 2659,45 Å
Ru	3436,74; 2916,26; 2725,47 Å	Pd	3404,58 Å.

Zusammenfassung

Chinolinselenol-2 stellt ein empfindliches Reagens zum Nachweis der Edelmetalle dar. Darstellung des Reagenses und Arbeitsvorschrift zur Anreicherung und anschließenden Bestimmung der Edelmetallspuren in Gesteinen und Erzen werden beschrieben.

Literatur

[1] FRIEDLÄNDER, P.: Ber. dtsch. chem. Ges. **15**, 333 (1882). — [2] GOLDSCHMIDT, V. M., u. C. PETERS: Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, math.-physik. Kl., Fachgr. II, **1932**, 377; vgl. diese Z. **96**, 422 (1934). — [3] HARVEY, C. E.: Spectrochemical Procedures, 1950. — [4] KRAUSE, P.: Diss. Frankfurt/M. 1954. — [5] LUNDE, G., u. M. JOHNSON: Z. anorg. allg. Chem. **172**, 167 (1928); vgl. diese Z. **81**, 410 (1930).

Dr. PAULA HAHN-WEINHEIMER, Mineralogisches Institut der Universität, Frankfurt/M., Senckenberg-Anlage 30

Aus dem Forschungslaboratorium der Siemens-Schuckertwerke A. G., Erlangen

Flammenphotometrische Bestimmung geringer Kaliummengen in Natrium und seinen Verbindungen nach Anreicherung mittels Tetraphenylborammonium

Von

K. H. NEEB und W. GEBAUHR

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. Februar 1958)

Die Bestimmung geringer Kaliumgehalte in Natrium und seinen Verbindungen findet im Hinblick auf verschiedene Probleme wachsendes Interesse. Will man dabei große Einwaagen vermeiden, so wird die Messung sehr geringer Kaliummengen notwendig. Es ist naheliegend, hierfür die Flammenphotometrie heranzuziehen.

Einer Verwendung dieses Verfahrens mußte die Prüfung auf seine Empfindlichkeit, Genauigkeit und Störanfälligkeit vorausgehen. Es war zu erwarten, daß hierbei wesentliche Verbesserungen eintreten, wenn ein geeignetes chemisches Abtrennungsverfahren vorangeschickt wird.

A. Die flammenphotometrische Messung:

Für die Bestimmung geringer Elementmengen ist wegen des geringen kontinuierlichen Untergrundes die Wasserstoff-Sauerstoffflamme der Kombination Sauerstoff-Acetylen überlegen. Die für Kalium günstigen Brenngasdrucke wurden durch Aufstellen einer Brenngas-Photostromcharakteristik ermittelt, die zeigte, daß kein ausgeprägtes Maximum des Photostroms auftritt[9]. Es wurde deshalb mit den von der Lieferfirma für den Brenner angegebenen günstigsten Brenngasdrucken von 0,3 at O_2 und 200 mm Wassersäule H_2 gearbeitet*.

Eine nähere Untersuchung der Emissionsstärken der Kaliumlinien bei geringen Konzentrationen ergab, daß die Linie 769,9 mμ nur einen

* Die Messungen wurden mit dem Spektralphotometer PMQ II mit Flammenzusatz der Fa. C. Zeiss durchgeführt.

geringen Untergrund aufweist und daher für die Bestimmung geringster Kaliummengen am besten geeignet ist.

Bei der höchsten Empfindlichkeitsstufe des Meßgerätes und einer Spaltbreite von 0,5 mm lassen sich Kaliumkonzentrationen von 0,5 μg/ml noch einwandfrei nachweisen; zwischen 0,5—50 μg/ml verläuft die Eichkurve geradlinig. In diesem Konzentrationsbereich durchgeführte 15 Kontrollmessungen ergeben einen mittleren Fehler der Einzelmessung von $\pm$ 5%, der in der Hauptsache auf Unregelmäßigkeiten des Substanztransportes in die Flamme zurückzuführen ist.

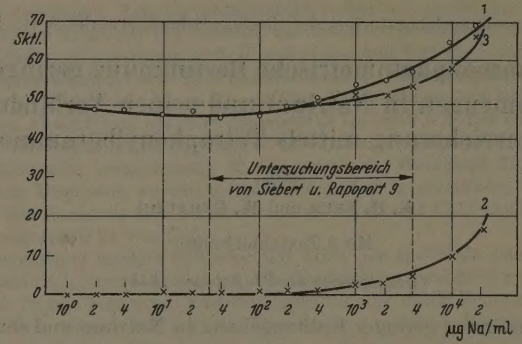


Abb. 1. Abhängigkeit der Kaliumemission vom Natriumzusatz

Die Kaliumlinien zeigen eine relativ starke Beeinflussung durch Lösungspartner, so daß es notwendig ist zu untersuchen, in welchem Maße Natrium vor der Bestimmung des Kaliums abgetrennt werden muß. Nach Siebert und Rapoport[9] sollen in der Sauerstoff-Acetylenflamme bei Kaliumkonzentrationen von 4 μg/ml merkliche Erhöhungen der Kaliumemission eintreten, wenn Natriummengen über 30 μg/ml gleichzeitig anwesend sind. Dieser Effekt kann nicht durch die Querempfindlichkeit der bei 819 mμ liegenden Natriumlinien gedeutet werden.

Aus Abb. 1 sind die Ergebnisse eigener Versuche mit dem gewählten O_2/H_2-Gemisch zu dieser Frage zu ersehen: Bei Vorgabe von 10 μg K/ml sinkt, entsprechend Kurve 1, die Kaliumemission bei wachsender Natriumzugabe zuerst merklich ab, um später wieder stark anzusteigen. Nur zum Teil beruht dieser Anstieg auf einer Erhöhung des Untergrundes. Hierzu zeigt Kurve 2 die Intensitäten, die in einer kaliumfreien Lösung als Querempfindlichkeit, hervorgerufen durch die benachbarten, bei 819 mμ liegenden Natriumlinien, registriert wird. Kurve 3 bildet die Summe aus den Werten der Kurve 2 und den mit einer reinen Kaliumlösung erhaltenen Emissionswerten. Damit sind die durch Querempfindlichkeit hervorgerufenen Erhöhungen gegeben. Die Differenz zwischen Kurve 1 und 3

beweist, daß die Anwesenheit von Natrium auch in der Sauerstoff-Wasserstoffflamme eine emissionsfördernde Wirkung auf die Kaliumlinie hat.

Auch die Anwendung des zweckmäßigen Korrekturverfahrens für den Untergrund durch seine Messung links und rechts der betreffenden Spektrallinie (Eingabelungsverfahren) zeigt, daß schon die Anwesenheit von Natriummengen um 10 μg/ml merkliche Beeinflussungen der Kaliumemission zur Folge hat und dadurch die Ergebnisse verfälscht werden. Daraus folgt die Notwendigkeit eines Abtrennungsverfahrens, das gestattet, Natriumkonzentrationen unter diesen Wert zu senken.

B. Chemische Anreicherung:

a) Die Ausfällung von Natriumchlorid:

Als einfachstes Verfahren für die Abtrennung des Natriums bietet sich seine Fällung als Chlorid durch Einleiten von Chlorwasserstoffgas in konzentrierte Lösungen an. Diese führt zu befriedigenden Trennungen, wenn neben Natriummengen von einigen Grammen das Kalium im Milligrammbereich vorliegt[5]. Eine Überprüfung des Verfahrens mit dem radioaktiven Kaliumisotop 42 für Kaliummengen zwischen 0,01 und 100 μg zeigt, daß bei Ausfällung von 1 g NaCl nicht zu vernachlässigende Mengen an Kalium mitgerissen werden. So betragen bei Vorgabe von 100 μg die Verluste etwa 15%, bei Vorlage von 0,01 μg fast 50%. (Eine Kontrolle dieser Vorgänge allein durch flammenphotometrische Messung ist nicht möglich. Durch den emissionssteigernden Einfluß der noch in der Lösung verbliebenen, nicht unerheblichen Natriummengen werden die Kaliumverluste beim Ausfällen des Natriums größtenteils kompensiert.)

b) Die Anreicherung des Kaliums mit Tetraphenylbor:

Da die nach einer Fällung mit Tetraphenylbornatrium[4,6,8] noch in Lösung verbleibenden Kaliummengen sehr gering sind, wurde versucht, auf diesem Wege die Abtrennung vorzunehmen.

Das Verfahren wurde mit Kaliummengen zwischen 20 und 100 μg bei Raumtemperatur und einem Lösungsvolumen von etwa 5 ml nach der Vorschrift von Gebauhr[5] überprüft. Der nach Abrauchen des Niederschlages mit Salpetersäure verbliebene Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen und das Kalium flammenphotometrisch bestimmt. Bei Mengen über 50 μg liegt die in Lösung verbliebene Kaliummenge unter 0,5 μg/ml, dagegen sind Kaliummengen von 20 μg nur noch teilweise fällbar. Wird der p_H-Wert der Lösung — wie verschiedentlich empfohlen — von 4 auf 2 gesenkt, so tritt zwar nach kurzem Stehenlassen ein Niederschlag auf, der jedoch kein Kalium enthält, wie die flammenphotometrische Messung zeigt.

Hier, wie auch bei späteren Versuchen, wurde zur Kontrolle ein radioaktives Leitisotop eingesetzt. In unserem Falle stand dafür das Kaliumisotop 42 zur Verfügung, ein β, γ-Strahler mit einer Halbwertszeit von

12,5 Std. Die maximale β-Energie von 3,6 MeV, welche 82% der gesamten β-Aktivität ausmacht, läßt es zu, daß die Aktivitätsmessungen der anfallenden Filtrate ohne weiteres und die der Niederschläge nach Lösen in einem geeigneten Lösungsmittel bequem im Flüssigkeitszählrohr vorgenommen werden können. Das von der Isotope Division, Harwell, erhaltene Kaliumcarbonat wies eine spezifische Aktivität von zunächst 7 mc/g Kalium auf. Seine radiochemische Reinigung erfolgte nach Lösen in stark verdünnter Salzsäure durch eine doppelte Perchloratfällung unter Zusatz von Na_2HPO_4 und Na_2SO_4 als Rückhalteträger. Die Kontrolle der Halbwertszeit an dem gereinigten Präparat ergab auch über einen längeren Zeitraum hinweg genau den Wert von 12,5 Std.

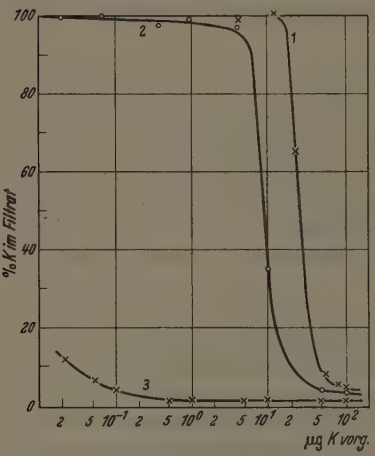


Abb. 2. Radiochemische Kontrolle der Kaliumfällungen

Die Kurve 1 der Abb. 2 gibt die Ergebnisse der radiochemischen Kontrolle wieder und zeigt, daß für Kaliummengen unter 100 μg die direkte Fällung nicht verwendbar ist.

c) Fällung des Kaliums mit Tetraphenylbor unter Zusatz von Trägern:

Kurve 2 (Abb. 2) stellt die Verteilung des Kaliums zwischen Lösung und Niederschlag dar, wie sie bei einer Fällung von 500 μg Dimethylanilinium-Ion mit Tetraphenylbornatrium auftritt. Es ist zu ersehen, daß im interessierenden Konzentrationsbereich die beabsichtigte Mitfällung nicht eintritt.

Den Vorteil, die flammenphotometrische Messung nicht wesentlich zu beeinträchtigen, weist neben den organischen Kationen auch das Ammoniumion auf, dessen chemische und kristallographische Ähnlichkeit mit dem Kalium Aussicht auf Erfolg bot. Eine Untersuchung des Emissionsspektrums einer NH_4Cl-Lösung von 5 mg/ml ergab keinen Unterschied gegenüber einem solchen von reinem Wasser.

Den Versuchen lag folgende Arbeitsvorschrift zugrunde: Die etwa 5 ml betragende Kaliumlösung wurde mit Salzsäure auf einen p_H-Wert von 4—5 eingestellt, 500 μg Ammoniumion in wäßriger Lösung wurde zugefügt und durch tropfenweisen Zusatz von 1 ml einer 0,1 m Tetraphenylbornatriumlösung wurden beide Ionen unter Rühren gefällt. Nach kurzem Stehen konnte die Lösung über ein Frittenstäbchen abgesaugt werden. Als Waschlösung diente eine 1% ige Essigsäure, die auf 100 ml 3 ml Reagenslösung enthielt. Nach Zerstören des Niederschlages durch

Abrauchen mit konz. Salpetersäure unter Zusatz von etwas H_2O_2 wurde der Rückstand mit 5 ml Wasser aufgenommen und diese Lösung wurde der flammenphotometrischen Messung zugeführt.

Nach den Ergebnissen aus Tab. 1 kann gesagt werden, daß unter den gewählten Bedingungen die Mitfällung des Kaliums in diesem Konzentrationsbereich quantitativ erfolgt, zumal Kontrollversuche mit nachträglich zugesetztem Kalium keine Abweichungen zeigten. Bei den geringen Kaliummengen tritt ein ziemlich konstanter Plusfehler von etwa 1 μg Kalium auf, der sich prozentual entsprechend stark bemerkbar macht. Blindwertbestimmungen ergaben eine damit im Einklang stehende Kaliummenge von 1 μg.

Tabelle 1. *Kaliumbestimmung nach Konzentrationsfällung mit Tetraphenylborammonium*

μg K vorg.	μg K gef.	Diff. in %
50,0	50,5	+ 1,0
20,0	20,8	+ 4,0
10,0	10,2	+ 2,0
5,0	6,4	+ 28
2,0	2,8	+ 40
1,0	2,5	+ 150

In gleicher Weise durchgeführte radiochemische Untersuchungen liefern den Beweis, daß auch unterhalb der inaktiven Nachweisgrenze vorhandene Kaliummengen quantitativ erfaßt werden (siehe Kurve 3, Abb. 2). So beträgt bei einer Gesamtmenge von 0,5 μg Kalium der im Filtrat verbliebene Anteil weniger als 1%. Weitere radioaktive Versuche ergaben, daß die Fällung von 1 μg Kalium zusammen mit 500 μg Ammonium auch bei Anwesenheit von 1 g NaCl quantitativ verläuft.

Schließlich konnte noch festgestellt werden, daß eine Vergrößerung der NH_4-Menge auf 2000 μg zwar eine geringfügige Verringerung des im Filtrat vorhandenen Kaliumanteils mit sich bringt, doch ist die Verbesserung von 0,6 auf 0,1% Verlust gegenüber dem Meßfehler der Flammenphotometrie von etwa 5% bedeutungslos. Größere Salzmengen können leicht eine Verstopfung der Kanüle des Brenners mit sich bringen, so daß auch weiterhin 500 μg NH_4-Ionen als zweckmäßigste Trägermenge eingesetzt wurden.

Der erwähnte Blindwert könnte durch spezielle Reinigungsoperationen sowie Gebrauch von Quarzgefäßen zurückgedrängt werden. Es erschien jedoch weniger aufwendig, mit organischen Lösungsmitteln zu arbeiten, deren Kaliumgehalte im allgemeinen unter der flammenphotometrischen Nachweisgrenze liegen.

Tetraphenylborkalium ist in einer Reihe von organischen Lösungsmitteln wie Aceton, Acetonitril und auch Tetrahydrofuran gut löslich. Letzteres kann am besten als Tetrahydrofuran-Wassergemisch mit einem Tetrahydrofurangehalt von 30—40% verwandt werden[5]. Im Bereich zwischen 650 und 950 mμ unterscheidet sich das Flammenspektrum eines solchen Gemisches nicht wesentlich von dem des reinen Wassers.

Erste Versuche ergaben, daß die Emission der Kaliumlinie 769 mμ beim Photometrieren aus solchen Gemischen um den Faktor 4—5 zunimmt. Dabei ist die Untergrundemission in beiden Fällen ziemlich gleich. In Abb. 3 sind die nach dem Eingabelungsverfahren korrigierten Meßwerte der Emission in Abhängigkeit vom Tetrahydrofurangehalt der Lösung als Kurve 1 aufgetragen. Diese zeigt, daß in 70%igem Tetrahydrofuran die Emission der Linie 769 mμ gegenüber reinem Wasser ungefähr um den Faktor 9 erhöht ist.

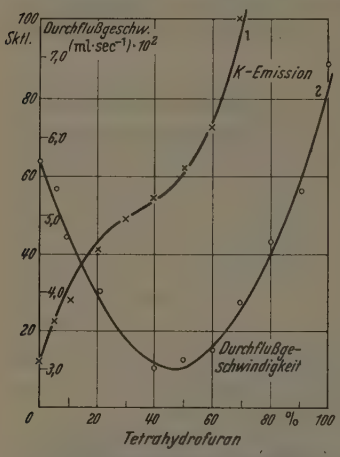


Abb. 3. Abhängigkeit der Kaliumemission und der Durchflußgeschwindigkeit vom Tetrahydrofurangehalt der Lösung

Dieser Effekt der Emissionssteigerung durch Zusatz organischer Substanzen ist bereits von einigen Autoren an verschiedenen Kationen untersucht worden (z. B. [1,2,3,7,10]). Seine eindeutige Klärung steht noch aus. Das Ergebnis eigener Untersuchungen über den Einfluß der Durchflußgeschwindigkeit gibt Kurve 2 der Abb. 3 wieder.

Aus dem Verlauf der Kurve 1 ergibt sich, daß es in Hinblick auf die Analysengenauigkeit zweckmäßig ist, die Tetrahydrofurankonzentration so zu wählen, daß man im flacheren Teil der Kurve, also mit etwa 40% Tetrahydrofuran arbeitet, was gleichzeitig die optimale Konzentration für die Löslichkeit des Niederschlages darstellt. Es liegt auf der Hand, daß infolge der merklichen Flüchtigkeit des Tetrahydrofurans Intensitätsabnahmen und damit verfälschte Werte bei den Bestimmungen erhalten werden, wenn nicht darauf geachtet wird, daß die Gefäße mit den Lösungen bis zur Messung bedeckt bleiben.

Schließlich ist auch zu berücksichtigen, daß das in der Lösung noch vorhandene Tetraphenylborion gleichfalls eine merkliche Erhöhung der Kaliumemission bewirkt, die etwa 20—25% gegenüber tetraphenylborfreien Lösungen ausmacht.

Die Eichkurve wurde mit Kaliummengen zwischen 0,7 und 30 μg aufgenommen. Die Vorbereitung der Lösung sowie die Durchführung der Konzentrationsfällung erfolgten in der bereits beschriebenen Weise; der abgesaugte und mit etwa 1 ml Waschlösung gewaschene Niederschlag wurde dann in genau 4 ml eines Tetrahydrofuran-Wassergemisches (40 : 60) gelöst, das Ganze in die zur Flammenphotometrie benötigten Gefäße übergeführt und sofort bedeckt. Die Ergebnisse der flammen-

photometrischen Messungen sind in der Tab. 2 zusammengestellt. Der resultierende mittlere Fehler der Einzelmessung beträgt etwa $\pm$ 5%. Der Blindwert ist erheblich herabgesetzt.

Bei der gravimetrischen Bestimmung des Kaliums mit Tetraphenylbor durch direkte Fällung aus stark natriumhaltigen Lösungen treten erhebliche Plusfehler auf, was bereits in einer früheren Arbeit festgestellt wurde[5]. Untersuchungen in dieser Richtung ergaben, daß bei Natriumchloridkonzentrationen unter 20 mg/ml keine Störungen der flammenphotometrischen Messung eintreten. Höhere Konzentrationen führen zu

Tabelle 2. *Kaliumbestimmungen durch Flammenphotometrie in Tetrahydrofuran-Wassergemischen*

µg K vorg.	µg K gef.	Diff. in %
30,0	30,1	+ 0,3
23,5	22,7	— 3,4
15,0	14,7	— 2,0
10,0	9,6	— 4,0
3,5	3,6	+ 3,0
1,5	1,6	+ 6,7
0,7	$0{,}7_5$	+ 7,1

Tabelle 3. *Kaliumbestimmungen in Anwesenheit von Natriumchlorid*

µg K vorg.	mg NaCl vorg.	µg K gef.	Diff. in %
20,0	500	19,7	— 1,5
20,0	1000	19,4	— 3,0
10,0	500	10,2	+ 2,0
10,0	1000	10,2	+ 2,0
1,0	500	1,4	+ 40
1,0	1000	1,6	+ 60

nicht mehr zu vernachlässigenden Plusfehlern. Durch Lösen des Niederschlages in einigen Tropfen Aceton und Wiederausfällen durch Wasserzusatz bei Zugabe einiger Tropfen Reagenslösung läßt sich diese Störung auf einfache Art beseitigen.

In Tab. 3 sind Resultate zusammengestellt, die unter Berücksichtigung der gewonnenen Erfahrungen erhalten worden sind. Die relativ großen Fehler der beiden letzten Werte dürften auf den Kaliumgehalt des verwendeten Natriumchlorids zurückzuführen sein. Dieses war vorher einer speziellen Reinigung und zwar einer Ammoniumtetraphenylbor-Konzentrationsfällung sowie zwei Umfällungen durch Einleiten von HCl-Gas unterworfen worden. Dennoch ließ sich mit dem hier beschriebenen Verfahren ein Kaliumgehalt von $6 \cdot 10^{-5}$ % feststellen*.

Bei der *Bestimmung kleiner Kaliummengen in Natriummetall* kann wie folgt verfahren werden:

Die Natriumprobe wird in einem etwa 15 ml fassenden Schliffkölbchen mit aufgesetztem, etwa 30 cm langem Steigrohr in möglichst wenig Methanol gelöst. Nach vollständigem Lösen gibt man durch das Steigrohr tropfenweise methanolische Salzsäure im Überschuß zu; nach Abklingen der anfänglich sehr heftigen Reaktion kann das Methanol auf dem siedenden Wasserbad durch das Steigrohr abgedampft

* Da das analysenreine Ausgangsmaterial auf Grund eigener Bestimmungen einen Kaliumgehalt von $2{,}2 \pm 0{,}1 \cdot 10^{-3}$% besitzt, wird durch die geschilderten Operationen eine Reinigung um den Faktor 50 erzielt.

werden. Das Abdampfen des Rückstandes wird noch einmal mit methanolischer Salzsäure und anschließend — zur Entfernung der Salzsäure — zweimal mit reinem Methanol durchgeführt.

Der so erhaltene Rückstand wird in 4—5 ml Wasser gelöst, die fast neutral reagierende Lösung durch einige Tropfen 0,1 n Salzsäure auf einen p_H-Wert von 4—5 gebracht und in ihr nach Zugeben von 500 μg NH_4-Ionen die Tetraphenylborfällung in der oben angegebenen Weise vorgenommen. Nach Absaugen über ein Frittenstäbchen löst man den Niederschlag mit einem Tropfen Aceton und fällt ihn durch Zusatz von 5 ml Wasser und 0,5 ml Reagenslösung wieder aus. Nach kurzem Stehen kann abgesaugt werden, das Nachwaschen erfolgt wiederum mit einem Milliliter Waschlösung. Der Niederschlag wird in wäßrigem Tetrahydrofuran gelöst und mit dieser Lösung die flammenphotometrische Messung durchgeführt.

Tabelle 4. *Kaliumbestimmungen in Natriummetall*

mg Na eingew.	μg K gef.	% K gef.
666	34,8	$5{,}3 \cdot 10^{-3}$
722	40,6	$5{,}6 \cdot 10^{-3}$
188	9,9	$5{,}3 \cdot 10^{-3}$
263	13,2	$5{,}1 \cdot 10^{-3}$

Nach dieser Arbeitsvorschrift wurden in einer Natriummetall-Probe Kaliumbestimmungen aus wechselnden Einwaagen durchgeführt, deren Ergebnisse in der Tab. 4 zusammengestellt sind. Sie zeigen, daß auch hier die Schwankungsbreite nicht mehr als $\pm$ 5% beträgt.

Zusammenfassung

Das hier beschriebene Verfahren gestattet, in metallischem Natrium oder in Natriumsalzen bei einer Einwaage von 1 g Kaliumgehalte bis herunter zu 10^{-4} % mit einem mittleren Fehler von $\pm$ 5% zu bestimmen. Der flammenphotometrischen Messung geht eine Anreicherung des Kaliums durch Konzentrationsfällung mit Ttraphenylborammonium voraus.

Herrn Dr. Spang, Forschungslaboratorium der Siemens-Schuckertwerke, danken wir für seine Mithilfe bei der Durchführung der radiochemischen Untersuchungen, Herrn Dr. Iwantscheff für das der Arbeit entgegengebrachte fördernde Interesse.

Literatur

[1] Curtis, G. W., H. E. Knauer u. L. E. Hunter: Amer. Soc. Testing. Mater., Sympos. Flamephotometry, Spec. Techn. Publ. **116**, 67 (1951); vgl. Chem. Abstr. **47**, 7363 (1953). — [2] Dean, J. A., u. J. H. Lady: Analyt. Chemistry **27**, 1533 (1955); **28**, 1887 (1956); vgl. diese Z. **151**, 309 (1956); **157**, 303 (1957). — [3] Fink, A.: Mikrochim. Acta (Wien) **1955**, 314; vgl. diese Z. **149**, 111 (1956). — [4] Flaschka, H.: diese Z. **136**, 99 (1952). — [5] Gebauhr, W.: Diss. Univ. Mainz 1953; siehe auch W. Geilmann u. W. Gebauhr: diese Z. **142**, 251 (1954). — [6] Geilmann, W. u., W. Gebauhr: diese Z. **139**, 161 (1953). — [7] Manna, L., D. H. Strunk u. S. L. Adams: Analyt. Chemistry **28**, 1070 (1956); **29**, 1885 (1957); vgl. diese Z. **155**, 350 (1957). — [8] Raff, P., u. W. Brotz: diese Z. **133**, 241 (1951). — [9] Siebert, H., u. S. Rapoport: Biochem. Z. **326**, 413 (1955). — [10] Siebert, H., u. S. Rapoport: diese Z. **150**, 81 (1956).

Dr. W. Gebauhr, Forschungslaboratorium der Siemens-Schuckertwerke A. G. Erlangen, Werner-von-Siemensstr. 50

Aus dem Anorganisch-chemischen Institut der Technischen Universität Berlin

Ein genaues und schnelles Verfahren zur kombinierten direkten Bestimmung der Oxydationsstufe des Vanadins und des Vanadingehalts von Metall-Vanadin-Sauerstoffverbindungen

Von

BERTOLD REUTER und JOHANNES SIEWERT

(Eingegangen am 3. März 1958)

Im Verlauf von Untersuchungen[4] über die Eigenschaften von Magnesium-Vanadin-Doppeloxyden in Abhängigkeit von der Oxydationszahl des Vanadins hat es sich als notwendig erwiesen, nicht nur den Magnesium- und Vanadingehalt der Präparate, sondern auch die Oxydationsstufe des Vanadins, die im vorliegenden Falle zwischen + 3 und + 4 lag, quantitativ zu bestimmen. Bei den Analysenwerten von zwei Substanzen der Zusammensetzung $2\,MgO \cdot VO_{2,00}$ und $2\,MgO \cdot VO_{1,95}$ unterscheiden sich nämlich die Magnesiumgehalte mit 29,73 und 29,88% und die Vanadingehalte mit 31,15 und 31,30% nur um je etwa 0,5%, obwohl in der ersten Substanz das gesamte Vanadin als Vanadin(IV) enthalten ist, während in der zweiten nicht weniger als 10% Vanadin(III) neben 90% Vanadin(IV) vorliegen*. Daher ist es nicht möglich, aus dem Magnesium- und Vanadingehalt mit ausreichender Genauigkeit indirekt auf die Oxydationszahl des Vanadins zu schließen. Diese muß vielmehr unmittelbar bestimmt werden. Entsprechendes gilt auch für andere derartige Doppeloxyde mit Vanadin in einer niederen Oxydationsstufe.

Nun haben RÜDORFF u. Mitarb.[5] kürzlich ein Verfahren zur kombinierten Bestimmung von Vanadingehalt und Oxydationsgrad angegeben, das darin besteht, daß man eine eingewogene Substanzprobe in schwefelsaurer Cer(IV)-sulfatlösung löst, dann mit Zinkamalgam so lange reduziert, bis ein Teil des Vanadins als Vanadin(III) vorliegt, und schließlich mit einer 0,1 n Cer(IV)-sulfatlösung und potentiometrischer Anzeige titriert. Aus dem Verbrauch zwischen den Potentialsprüngen V^{III}/V^{IV} und V^{IV}/V^{V} erhält man den Vanadingehalt. Eine zweite Einwaage wird in verdünnter Schwefelsäure unter Zusatz von so viel

* In beiden Fällen ist die zuerst von RÜDORFF u. Mitarb.[5] beobachtete Neigung derartiger Vanadin(IV)-verbindungen zur teilweisen Disproportionierung unberücksichtigt geblieben, da sie an der in diesem Zusammenhang allein interessierenden durchschnittlichen Oxydationsstufe des Vanadins nichts ändert.

0,1 n Cer(IV)-sulfatlösung gelöst, daß deren Menge nicht ausreicht, um das Vanadin quantitativ in Vanadin(V) zu überführen. Nach vollständigem Lösen der Substanz titriert man dann mit der gleichen Cer(IV)-sulfatlösung bis zum Potentialsprung V^{IV}/V^{V} weiter und kann nun aus dem Verbrauch an Cer(IV)-sulfatlösung die Oxydationsstufe des Vanadins in der Substanz berechnen. Dabei geht der Faktor der Cer(IV)-sulfatlösung, wie Rüdorff u. Mitarb. gezeigt haben, in die Berechnung des Oxydationsgrades nicht ein. Ein wesentlicher Nachteil dieses Verfahrens liegt darin, daß man auf potentiometrische Endpunktsanzeige angewiesen ist, weil die beiden Potentialsprünge V^{III}/V^{IV} und V^{IV}/V^{V} hintereinander erfaßt werden müssen, was mit Hilfe der in der Cerimetrie gebräuchlichen Redoxindicatoren nicht möglich ist.

Prinzip des Verfahrens

Im Folgenden soll nun ein im Prinzip ähnliches, jedoch erheblich einfacheres Verfahren beschrieben werden, bei dem ein Farbindicator benutzt und Oxydationszahl und Vanadingehalt hintereinander in derselben Einwaage bestimmt werden.

Die *Oxydationsstufe* des Vanadins wird folgendermaßen ermittelt: Die eingewogene feste Analysensubstanz wird in halbkonzentrierter Schwefelsäure gelöst unter Zusatz von 0,1 n Kaliumpermanganatlösung, deren Menge so groß gewählt werden muß, daß das Vanadin wenigstens etwas über die Oxydationsstufe + 4 hinaus oxydiert wird. Nachdem die Substanz vollständig in Lösung gegangen ist, wird in Gegenwart von Phosphorsäure mit 0,1 n Eisen(II)-sulfatlösung gegen Natrium-N-methyldiphenylamin-p-sulfonat als Redoxindicator nach Knop u. Kubelková-Knopová[2] titriert. Der Endpunkt der Titration, d. h. die vollständige Reduktion des Vanadins zum Vanadin(IV), ist sehr bequem an dem scharfen Umschlag der Farbe der Lösung von Rotviolett nach Blau zu erkennen[1]. Die Differenz zwischen dem $KMnO_4$- und $FeSO_4$-Verbrauch ist ein Maß für die Oxydationsstufe des Vanadins.

Zur *Vanadinbestimmung* wird anschließend mit überschüssiger $KMnO_4$-Lösung vollständig zum Vanadin(V) oxydiert. Der $KMnO_4$-Überschuß wird nach der Methode von Lang u. Kurtz[3] mit einigen Tropfen Natriumnitritlösung entfernt und das überschüssige Nitrit sofort durch Harnstoff zerstört. Die Lösung wird dann erneut mit 0,1 n $FeSO_4$-Lösung gegen Natrium-N-methyldiphenylamin-p-sulfonat titriert. Da hierbei das Vanadin quantitativ zu Vanadin(IV) reduziert wird, ist der $FeSO_4$-Verbrauch ein Maß für den Vanadingehalt.

Berechnung der Ergebnisse

Die Berechnung von Vanadingehalt und Oxydationsstufe des Vanadins soll am Beispiel einer Substanz der allgemeinen Zusammensetzung $n\,MeO \cdot VO_x$ abgeleitet werden, worin MeO ein beliebiges Metalloxyd

ist — im vorliegenden Falle war es MgO —, das allerdings selbst nicht an den Redoxreaktionen teilnehmen darf. Die Oxydationsstufe des Vanadins wird dabei zweckmäßig durch die auf 1 Vanadinatom bezogene Zahl x der Sauerstoffatome des Vanadinoxyds ausgedrückt; ihr Wert beträgt also $2\,x$.

Die Bestimmung der Oxydationsstufe des Vanadins beruht darauf, daß die Analysensubstanz zunächst unter Oxydation mit b ml 0,1 n $KMnO_4$-Lösung gelöst und das Vanadin dann mit a ml 0,1 n $FeSO_4$-Lösung wieder bis zum Vanadin(IV), entsprechend $x = 2$, reduziert wird. Die Differenz $a—b$ ist dann ein Maß für $x—2$, d. h. die Abweichung der Oxydationsstufe des Vanadins von + 4.

Da 1 mMol m einer Substanz n $MeO \cdot VO_x$ bei $x — 2 = 0{,}5$ gerade $a — b = 10$ ml 0,1 n Lösung verbraucht, ergibt sich die Beziehung:

$$a — b = 20\,(x — 2).$$

Bei $x > 2$ haben sowohl $x — 2$ als auch $a — b$ positive Vorzeichen. Bei $x < 2$ sind beide Vorzeichen negativ. Für eine beliebige Einwaage e gilt:

$$a — b = 20\,(x — 2) \cdot e/m.$$

Berücksichtigt man weiter, daß die $FeSO_4$-Lösung im allgemeinen nicht genau 0,1 n ist, sondern einen Faktor F hat und daß f der Faktor der $KMnO_4$-Lösung relativ zur $FeSO_4$-Lösung ist, so erhält man:

$$(a — bf)\,F = 20\,(x — 2) \cdot e/m$$

oder

$$\frac{e}{m} = \frac{(a — bf\,F)}{20\,(x — 2)} \cdot \qquad (1)$$

Bei der Vanadinbestimmung, also bei der zweiten Titration, werden dann für die Reduktion der Einwaage e von Vanadin(V) zu Vanadin(IV) A ml der $FeSO_4$-Lösung verbraucht. Es gilt dann:

$$\frac{e}{m} = \frac{A \cdot F}{10} \qquad (2)$$

und für den Vanadingehalt der Substanz in Gewichtsprozenten:

$$\%\ V = \frac{A \cdot F \cdot 50{,}95 \cdot 10}{e}.$$

Da nun die Bestimmung der Oxydationsstufe und die Vanadinbestimmung hintereinander mit derselben Einwaage, also gleichem e/m, durchgeführt werden, kann man die Gl. (1) und (2) gleichsetzen und erhält:

$$\frac{A \cdot F}{10} = \frac{(a — bf)\,F}{20\,(x — 2)}$$

und daraus schließlich nach Kürzen und Umformen:

$$x = \frac{a — bf}{2\,A} + 2.$$

Es zeigt sich also, daß für die Berechnung von x und damit der Oxydationsstufe des Vanadins weder die Einwaage noch der Faktor der $FeSO_4$-Lösung bekannt zu sein brauchen, x hängt vielmehr nur noch vom Verbrauch b an $KMnO_4$ beim Lösen, vom $FeSO_4$-Verbrauch bei der ersten (a) und zweiten Titration (A) und vom relativen Faktor f der $KMnO_4$-Lösung gegenüber der $FeSO_4$-Lösung ab.

Ferner ist wichtig, daß die Berechnung des Vanadingehalts von fast allen Größen unabhängig ist, die zur Bestimmung der Oxydationsstufe verwendet werden. Der

einzige Wert, der in beide Rechnungen eingeht, ist der Verbrauch A an $FeSO_4$-Lösung bei der zweiten Titration. Dies wirkt sich natürlich günstig auf die Genauigkeit der Analysen aus. Man kann daher bei Doppeloxyden n $MeO \cdot VO_x$ auf eine direkte Bestimmung des Oxyds MeO verzichten und es stattdessen mit hinreichender Genauigkeit indirekt aus der Differenz des Vanadinoxydgehalts gegen 100% berechnen.

Einstellung der Lösungen

Die 0,1 n $FeSO_4$-Lösung wird unter Verwendung von Natrium-N-methyldiphenylamin-p-sulfonat, also dem gleichen Indicator wie bei der Vanadinbestimmung, mit Kaliumdichromat eingestellt. Um einen konstanten Titer zu erhalten, wird sie zweckmäßig unmittelbar vor Gebrauch über einen Silberreduktor in die Bürette eingefüllt. Damit jedoch das oxydierte Silber aus dem Reduktor nicht in Lösung geht, muß der $FeSO_4$-Lösung etwas Salzsäure zugesetzt werden.

Die 0,1 n $KMnO_4$-Lösung braucht nur relativ zur $FeSO_4$-Lösung eingestellt zu werden, doch muß dabei wegen des Salzsäuregehalts Reinhardt-Zimmermann-Lösung zugesetzt werden.

Arbeitsvorschrift

Etwa 200 mg der zu untersuchenden Substanz werden in wenigen Millilitern 0,1 n $KMnO_4$-Lösung aufgeschlämmt und mit 10 ml halbkonzentrierter Schwefelsäure versetzt. Nach Verbrauch des Permanganats wird in kleinen Portionen weiter so viel $KMnO_4$-Lösung zugesetzt, zunächst in der Kälte, dann in der Hitze, bis die gesamte Substanz gelöst ist, jedoch möglichst keinen Permanganatüberschuß enthält. Nach Zusatz von 5 ml konzentrierter Phosphorsäure läßt man erkalten und titriert nach Verdünnen auf etwa 100 ml und nach Zusatz von 0,3 ml einer 0,1%igen wäßrigen Lösung von Natrium-N-methyldiphenylamin-p-sulfonat als Indicator mit 0,1 n $FeSO_4$-Lösung bis zum Farbumschlag der Lösung von Rotviolett nach Blau.

Zu der austitrierten Lösung wird nun ein merklicher Überschuß einer etwa 1 n $KMnO_4$-Lösung zugesetzt und dann unter mechanischem Rühren in der Kälte 5%ige $NaNO_2$-Lösung bis gerade zur Entfärbung zugetropft. Die Lösung wird jetzt sofort mit 5 g Harnstoff versetzt und 10 min weitergekocht. Anschließend wird zur Bestimmung des Vanadingehalts wieder wie oben mit der 0,1 n $FeSO_4$-Lösung unter erneutem Zusatz von Natrium-N-methyldiphenylamin-p-sulfonat titriert.

Testanalysen

Zunächst muß geprüft werden, ob die Titration von Vanadin(V) mit $FeSO_4$-Lösung gegen Natrium-N-methyldiphenylamin-p-sulfonat zu zuverlässigen Werten führt. Zu diesem Zweck wurde reinstes V_2O_5 eingewogen, in 2 n Natronlauge gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert und mit 0,1 n $FeSO_4$-Lösung titriert. Dabei wurden folgende Werte erhalten:

mg V_2O_5, eingewogen:	359,0	352,4	352,8	356,6
mg V_2O_5, gefunden:	359,1	352,5	352,5	356,3
Fehler in Prozenten:	+0,03	+0,03	—0,09	—0,08.

Anschließend wurden die austitrierten Lösungen mit $KMnO_4$-Lösung oxydiert, der $KMnO_4$-Überschuß mit Nitrit und dieses mit Harnstoff entfernt und erneut mit der $FeSO_4$-Lösung titriert:

mg V_2O_5, gefunden:	359,4	352,2	352,5	356,3
Fehler in Prozenten:	+0,11	—0,06	—0,09	—0,08.

Die Übereinstimmung der gefundenen Werte mit den Einwaagen zeigt, daß die Vanadinbestimmung zu sehr genauen Ergebnissen führt. Der Vergleich der Resultate der ersten und zweiten Titration läßt weiter erkennen, daß auch die angewandte Methode zur Oxydation von Vanadin(IV) zu Vanadin(V) durch $KMnO_4$, die Entfernung des $KMnO_4$-Überschusses mit Nitrit und dessen Zerstörung mit Harnstoff zuverlässig funktionieren.

Weiter wurde die Methode zur Bestimmung der Oxydationsstufe des Vanadins kontrolliert. Hierzu wurde ein reines Vanadinoxyd mit einer Oxydationsstufe zwischen + 3 und +4 benutzt. Da die Substanz in diesem Falle keine weitere Komponente enthielt, konnte die Oxydationsstufe sowohl direkt bestimmt ($x_{best.}$) als auch indirekt aus der Differenz zwischen dem Vanadinwert und 100% errechnet ($x_{ber.}$) werden. Dabei wurden die in Tab. 1 wiedergegebenen Werte erhalten.

Tabelle 1. *Testanalyse eines niederen Vanadinoxyds*

	I	II	III	Mittelwert
Einwaage e in Milligramm	200,7	199,9	228,6	
1. Titration				
b ml 0,1 n $KMnO_4$-Lösg. ($f = 1{,}0330$)	25,00	25,00	30,00	
a ml 0,1 n $FeSO_4$-Lösg. ($F = 0{,}9973$)	22,35	22,30	26,90	
daraus Oxydationsgrad $x_{best.}$	1,9293	1,9280	1,9270	1,9281
Abweichung vom Mittelwert in Prozent	+0,06	−0,005	−0,06	
2. Titration				
A ml 0,1 n $FeSO_4$-Lösg. ($F = 0{,}9973$)	24,60	24,50	28,00	
daraus Gew.-% Vanadin	62,28	62,28	62,24	62,27
Abweichung vom Mittelwert in Prozent	+0,02	+0,02	−0,05	
Oxydationsgrad berechnet $x_{ber.}$	1,9285	1,9287	1,9320	1,9297
Abweichung vom Mittelwert in Prozent	−0,06	−0,05	+0,12	
Differenz $x_{ber.} - x_{best.}$ in Prozent	−0,04	+0,03	+0,26	+0,08

Die Ergebnisse zeigen, daß die Werte reproduzierbar sind und daß die direkt bestimmten Werte gut mit den aus der Differenz gegen 100% indirekt errechneten übereinstimmen.

Zusammenfassung

Es wird ein Verfahren beschrieben, das es gestattet, in Metall-Vanadin-Sauerstoffverbindungen in *einer* Probe hintereinander die Oxydationsstufe des Vanadins und den Vanadingehalt auf maßanalytischem Wege mit großer Genauigkeit zu bestimmen. Zur Ermittlung der Oxydationsstufe wird mit einer bekannten Menge $KMnO_4$-Lösung oxydierend gelöst und mit $FeSO_4$-Lösung bis zum Vanadin(IV) zurücktitriert. Als Indicator wird Natrium-N-methyldiphenylamin-p-sulfonat verwendet.

Anschließend wird mit $KMnO_4$ zum Vanadin(V) oxydiert, der $KMnO_4$-Überschuß mit Nitrit entfernt, das nicht umgesetzte Nitrit mit Harnstoff zerstört und der Vanadingehalt durch erneute Titration mit $FeSO_4$-Lösung bestimmt.

Literatur

[1] Brennecke, E., u. E. Blasius in G. Jander, Neuere maßanalytische Methoden, 4. Auflage, Stuttgart: Enke, 1956. — [2] Knop, J., u. O. Kubelková-Knopová: diese Z. **122**, 183 (1941). — [3] Lang, R., u. F. Kurtz: diese Z. **86**, 288 (1931). — [4] Reuter, B., u. J. Siewert: Naturwissenschaften **44**, 440 (1957). — [5] Rüdorff, W., G. Walter u. H. Becker: Z. anorg. allg. Chem. **285**, 287 (1956).

Prof. Dr.-Ing. Bertold Reuter, Berlin-Charlottenburg 2, Hardenbergstraße 34

Aus dem Institut für Allgemeine Chemie der Technischen Universität Budapest (Ungarn)

Maßanalytische Ascorbinsäurebestimmungen mit Variaminblau als Indicator

Von

L. Erdey und L. Káplár

(Eingegangen am 17. Februar 1958)

Das älteste Verfahren zur maßanalytischen Ascorbinsäurebestimmung ist das Verfahren von Tillmans[19], bei welchem mit 2,6-Dichlorphenolindophenollösung bis zur bleibenden Blaufärbung der Flüssigkeit titriert wird. Diese Methode ist das heute vorzugsweise benutzte Verfahren zur Bestimmung des Vitamin C-Gehaltes von Pflanzen und biologischem Material. Obzwar man im Laufe der Zeit viele Modifikationen und Verbesserungen des Verfahrens empfohlen hat, liefert es doch nicht in allen Fällen die erwünschte Genauigkeit.

Das Titrationsverfahren mit Jodlösung und Stärke als Indicator[2,9,15] wird in den Pharmacopöen der meisten Länder zur Ascorbinsäurebestimmung vorgeschrieben. Der verhältnismäßig große Indicatorfehler und die Verlangsamung der Reaktion Ascorbinsäure-Jod durch die Stärke bedeuten aber erhebliche Nachteile der Methode. Diese Nachteile liegen auch bei dem Jodatverfahren von Ballentine[1] vor, bei welchem unter Zusatz von Kaliumjodid bis zur Stärkeblaufärbung titriert wird. Das eigentliche Oxydationsmittel ist ja auch hier das Jod.

Eisen(III)-salze (Chlorid oder Alaun) werden als Oxydationsmittel unter Verwendung von Ammoniumrhodanid[11,12,13,17] oder Kaliumjodid-Stärke[7] als Indicatoren empfohlen. Erdey und Bodor[3] haben aber bereits auf die vorteilhafte Anwendbarkeit der Variaminblauindikation bei der Ascorbinsäuretitration mit Eisen(III)-chloridlösung hingewiesen.

Weitere zur Ascorbinsäurebestimmung empfohlene oxydierende Maßflüssigkeiten sind Chloramin-T-Lösung[8], Permanganatlösung[10] (beide mit Jodid-Stärkeindikation), Bromatlösung (mit p-Äthoxychrysoidin als Indicator)[14], Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung[18] und essigsaure Bromlösung[20].

Schwache Oxydationsmittel (2,6-Dichlorphenolindophenol, Kupfer(II)-sulfat, Eisen(III)-sulfat[16], Jod, Jodat, Chloramin T usw.) oxydieren Ascorbinsäure quantitativ zu Dehydroascorbinsäure. Mit starken Oxydationsmitteln (Wasserstoffperoxyd, Chromsäure, Salpetersäure, Hypochlorit) kann die Oxydation weiter gehen[16]. Aus den in Tab. 1 zusammengestellten Werten der Redoxpotentiale verschiedener Systeme sieht man, daß alle dort angegebenen Maßlösungen theoretisch zur quantitativen Oxydation der Ascorbinsäure geeignet erscheinen. Man muß jedoch beachten, daß die Versuchsumstände Bestimmungsfehler verursachen können. So sind wäßrige Ascorbinsäurelösungen besonders in Gegenwart von Schwermetallspuren sehr unbeständig und werden auch durch die Luft mehr oder weniger oxydiert. Im Falle von Pflanzenstoffextrakten können Begleitsubstanzen die Oxydation beschleunigen oder verzögern. Ähnliche Wirkungen können auch die Temperatur, der p_H-Wert und das Licht hervorrufen.

Tabelle 1

System	E_0 Volt
$C_6H_8O_6 \rightleftharpoons C_6H_6O_6 + 2\,H^+ + 2\,e$	+ 0,36
$2\,J^- \rightleftharpoons J_2 \cdot aqu. + 2\,e$	+ 0,62
$Fe^{2+} \rightleftharpoons Fe^{3+} + e$	+ 0,75
$Cl^- + 2\,OH^- \rightleftharpoons ClO^- + H_2O + 2\,e$	+ 0,95

Die Untersuchungen, über die im folgenden berichtet wird, sind zu dem Zweck ausgeführt worden, um die Anwendbarkeit der Variaminblauindikation bei oxydimetrischen Ascorbinsäurebestimmungen zu prüfen. Als Oxydationsmittel haben wir Chloramin T, Jod, Jodat, Bijodat, Eisen(III)-chlorid, und Eisen(III)-ammoniumsulfat angewendet. Die Prüfung erstreckt sich auf reine Ascorbinsäurelösungen sowie auf die Vitamin C-Bestimmung in Arzneimitteln und Pflanzenextrakten.

Experimenteller Teil

Lösungen

0,1 n Ascorbinsäurelösung. Man löst ungefähr 10 g Ascorbinsäure p. a. in 1 l dest. Wasser, das in einer Glasapparatur destilliert worden ist. Die Titerstellung erfolgt jodometrisch: Zu 20 ml 0,1 n Kaliumjodatlösung fügt man 2 ml 2 n Salzsäure und 0,5 g Kaliumjodid, läßt die Ascorbinsäurelösung bis zur hellgelben Farbe zufließen, setzt 3 Tropfen 1%ige Variaminblaulösung und so lange eine 20%ige Natriumacetatlösung hinzu, bis die blaue Farbe des Indicators erscheint, fügt noch 1 ml Natriumacetatlösung zu und titriert tropfenweise weiter, bis die Lösung eben farblos geworden ist[5].

Indicatorlösung. Man verreibt 0,1 g Variaminblau gründlich mit wenig Wasser, verdünnt dann mit Wasser auf 10 ml und filtriert die Lösung durch ein Faltenfilter.

0,1 n Chloramin T-Lösung wird wie üblich bereitet; die Titerstellung erfolgt mit 0,1 n Arsenigsäurelösung.

0,1 n Jod-, Kaliumjodat- und Kaliumbijodatlösungen. Zur Bereitung und Titerstellung verfährt man wie üblich.

0,1 n Eisen(III)-ammoniumsulfatlösung. Man löst 48,221 g $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$ p. a. in 1 l Wasser.

0,1 n Eisen(III)-chloridlösung. Man löst 5,6 g Eisenpulver unter gelinder Erwärmung in 40 ml konz. Salzsäure, verdünnt nach Aufhören der Gasentwicklung mit Wasser auf das dreifache Volumen, filtriert, oxydiert mit Wasserstoffperoxyd, verkocht dessen Überschuß und ergänzt die Lösung auf 1 l.

0,01 n Lösungen bereitet man stets durch Verdünnung der entsprechenden 0,1 n Lösungen.

2 n Essigsäure.

0,2 n Essigsäure-Natriumacetatpufferlösung von p_H 4,55.

Untersuchungssubstanzen

Vitamin C-Tabletten, mit ungefähr 0,1 g Ascorbinsäuregehalt.

Injektionspräparate. Die verwendeten Präparate enthalten etwa 10% Vitamin C.

Pflanzenextrakte. Man zerkleinert die je nach dem zu erwartenden Vitamin C-Gehalt gewählte Menge der Pflanzen, Gemüse, Obst usw. mit einem rostfreien Messer und verreibt auf einem Glasreibebrett. Die so vorbereitete Substanz wird in einem Glasgerät mit 4×5 ml Eisessig extrahiert. Man verdünnt den Extrakt in einem Meßkolben zur Marke, schüttelt um, filtriert und führt die Bestimmung in einem aliquoten Teil des Filtrats durch. Im Falle der Anwendung einer Eisen(III)-maßlösung bewährt sich auch eine Extraktion mit Metaphosphorsäure bzw. mit Metaphosphorsäure-Eisessig.

Bestimmung mit Chloramin T-Maßlösung

Die Titration muß bei einem bestimmten p_H-Wert ausgeführt werden, der so auszuwählen ist, daß einerseits die Oxydation der Ascorbinsäure mit Chloramin T quantitativ und ohne störende Nebenreaktionen verläuft, andererseits der Farbumschlag des Variaminblauindicators genügend scharf ist. Das Redoxpotential von Chloramin T ändert sich mit dem p_H-Wert. Im allgemeinen benutzt man eine Chloramin T-Lösung in 5 %iger Salzsäure, man kann jedoch auch noch Lösungen mit den p_H-Werten 1—3 gut anwenden. Der Variaminblauindicator arbeitet am besten im p_H-Gebiet 3—4. Daraus ergibt sich, daß für die Ascorbinsäurebestimmung mit Chloramin T der p_H-Wert 3 am besten geeignet sein wird. Wir stellen diesen p_H-Wert durch Zusatz von Essigsäure her, die Erkennung des Endpunktes wird durch Zugabe von Kaliumbromid verbessert. Bei Verschiebung des p_H-Wertes in alkalischer Richtung kann infolge der Verzögerung des Endpunktes ein Überverbrauch an Maßlösung von 0,5% eintreten, der Indicator schlägt dann statt nach Blau in die sich schnell zersetzende rote Farbe um. Bei p_H-Werten unter 2 wird der Indicator zerstört, die Farbe des Endpunktes erscheint verspätet. Zur Zerstörung des Variaminblaus trägt das auf Zugabe von Chloramin T im Endpunkte entstehende Brom bei. Der Vorteil der Indikation mit

Kaliumbromid-Variaminblau ist der, daß die Stärke, die meist in pharmazeutischen Vitamin C-Präparaten vorhanden ist, nicht stört. Den Ascorbinsäuregehalt dieser Präparate kann man also ohne vorhergehende Entfernung der Stärke genau bestimmen.

Arbeitsweise

Zu der 50—500 mg Ascorbinsäure enthaltenden wäßrigen Lösung fügt man 20 ml 2 n Essigsäure, 1 g Kaliumbromid, 3 Tropfen 1%ige Variaminblaulösung und so viel Wasser, daß das zu erwartende Endvolumen 100 ml beträgt. Dann titriert man langsam unter kräftigem Umschütteln mit 0,1 n Chloramin T-Lösung bis zur bleibenden Blaufärbung. Bei Titrationen mit 0,01 n Maßlösung verfährt man ebenso, nur unterbleibt die Volumenergänzung mit Wasser, um eine etwaige Oxydation zu vermeiden.

Tabelle 2

Einwaage $C_6H_8O_6$ mg	Verbrauch an 0,1 n (bzw. 0,01 n) Chloramin T-Lösung ml	Gefunden $C_6H_8O_6$ mg	Abweichung %
277,48	31,51	277,48	± 0
185,28	21,02	185,10	— 0,1
92,46	10,51	92,55	+ 0,1
46,50	5,27	46,41	— 0,18
37,28	42,40*	37,34	+ 0,16
22,42	25,51*	22,46	+ 0,18
15,80	17,98*	15,83	+ 0,2
7,88	8,97*	7,90	+ 0,25
3,96	4,52*	3,98	+ 0,5

Zur *Ascorbinsäurebestimmung in Tabletten* pulvert man 5 Tabletten in einem Mörser und wägt daraus eine geeignete Menge ein. Man löst in Wasser, säuert mit 20 ml 2 n Essigsäure an und verfährt weiter wie oben angegeben.

Im Falle von *Injektionen* spült man den Inhalt der Ampulle mit Wasser in einen 100 ml-Meßkolben und säuert vor dem Auffüllen mit 20 ml 2 n Essigsäure an. Die Titration erfolgt in einem aliquoten Teil der Lösung.

Obst- und Gemüseextrakte sind bereits essigsauer (siehe oben). Zur Titration verwendet man aliquote Teile von 20 bzw. 50 ml.

In Tab. 2 sind Ergebnisse von Ascorbinsäurebestimmungen in reinen Lösungen zusammengestellt; die mit * bezeichneten Titrationen sind mit 0,01 n Maßlösung durchgeführt.

Aus 12 Parallelbestimmungen ergibt sich der relative Fehler im 0,1 n Maßstabe zu ± 0,1%, im 0,01 n Maß zu ± 0,2%; die Standardstreuung beträgt im 0,1 n Maß ± 0,054 ml, im 0,01 n Maß ± 0,14 ml.

Tab. 3 enthält die Ergebnisse von Ascorbinsäurebestimmungen in Tabletten, Injektionen und einigen der untersuchten Pflanzenextrakte.

In der Tabelle sind bei den Arzneimitteln die von der Fabrik angegebenen Werte, bei Pflanzenextrakten die mittels Kaliumjodid-Stärkeindikation erhaltenen Werte als Sollwerte angegeben. Letztere Bestimmungen wurden wie üblich in 5%iger salzsaurer Lösung ausgeführt. Waren die Extrakte gefärbt, so konnte man den Endpunkt mit Variaminblau nicht wahrnehmen. In diesem Falle versetzte man die Lösung mit 2 ml Tetrachlorkohlenstoff und titrierte, bis sich die organische Schicht durch das im Äquivalenzpunkt frei werdende Brom gelb färbte.

Tabelle 3

Untersuchungssubstanz	Sollwert nach Angaben der Fabrik	Gefunden mit Chloramin T-Lösung und Kaliumbromid-Variaminblau	Gefunden mit Chloramin T-Lösung und Kaliumjodid-stärke	Gefunden mit Kaliumjodat-maßlösung	Gefunden mit Kaliumbijodat-maßlösung	Gefunden mit Eisen (III)-chlo-ridmaßlösung	Gefunden mit Eisen (III)-ammonium-sulfatmaßlösung
	mg	mg		mg		mg	
Vitamin C-Tabletten	100	101		100,9	100,0	103,0	
	je Tablette	100	—	101,0	101,0	102,0	—
				102,0	101,9	101,0	
Vitamin C-Injektionen	200	201					201,0
	je Ampulle	201	—	—	—	—	203,0
		203					199,0
100 ml Stammlösung aus 1 Tablette (Gewicht 0,369 g)	100	—	—	99,0*	99,3*	—	—
				98,6*	98,8*		
	mg-%	mg-%		mg-%		mg-%	
Paradeispaprika, rot		205,0	199,0	—	—	—	—
Paprika, grün		—	—	112,3	114,4	—	—
Tomaten		—	—	32,6	34,0	—	—
Tomaten, Lucullus		—	—	16,1	15,8	—	—
Pritamin	nach der Methode Schulek-Floderer						
	339	—	—	—	—	320,0	329,0
Birnen		1,1	1,3	—	—	—	—
Pflaumen		4,7	—	—	—	4,7	—
Roter Rettich		—	—	15,0	15,3	—	—
Weißer Rettich		—	—	34,3	34,7	—	34,0
Zwiebeln		—	—	17,8	18,1	—	—
Johannisbeeren		—	—	26,0	26,8	—	22,0

Bestimmung mit Jodlösung

Der Endpunkt der Ascorbinsäuretitration mit Jodlösung ist bei Anwendung des Variaminblauindicators in mit Essigsäure-Natriumacetat gepufferter Lösung ausgezeichnet wahrzunehmen. Der erste überschüssige Tropfen Maßlösung ruft sofort die blauviolette Farbe der Lösung hervor. Die Titrationen werden auf die bei der Titerstellung beschriebene Weise ausgeführt. Der Vorteil des Variaminblauindicators gegenüber der Stärke besteht darin, daß der Indicatorfehler auch in verdünnten Lösungen sehr gering ist und daß die Oxydation der Ascorbinsäure rasch und unverzögert vor sich geht.

Wir bestimmten auf diese Art den Ascorbinsäuregehalt von Vitamin C-Tabletten. Der Gehalt betrug laut Fabriksangabe 0,10 g, wir fanden 0,101 g.

Bestimmung mit Kaliumjodat- und Kaliumbijodatmaßlösung

Erdey, Bodor und Buzásné[4] beschrieben eine direkte ascorbinometrische Methode der Jodatbestimmung. Zur Bindung des entstehenden Jodids fügten sie Quecksilber(II)-chlorid zur Lösung. Ascorbinsäure kann umgekehrt auch direkt mit Kaliumjodat titriert werden. Setzt man auch noch Kaliumjodid zur Lösung oder bindet man das entstehende Jodidion nicht, so oxydiert das im Laufe der Reaktion

$$JO_3^- + 5\,J^- + 6\,H^+ \rightleftharpoons 3\,J_2 + 3\,H_2O$$

entstehende Jod die Ascorbinsäure. Die Kaliumjodatlösung ist in diesem Falle eigentlich nur eine stabilisierte Jodlösung.

Man arbeitet am besten folgendermaßen: Man säuert die 50—500 mg Ascorbinsäure enthaltende neutrale wäßrige Lösung mit 5 ml 2 n Essigsäure an, fügt 3 Tropfen 1%ige Variaminblaulösung hinzu und titriert bis zur schwachblauen Färbung. In 0,01 n Maßbereich ist es zweckmäßig der Lösung noch 0,1 g Kaliumjodid zuzusetzen.

Unter denselben Bedingungen kann man auch Kaliumbijodatmaßlösung anwenden.

Tabelle 4

Einwaage $C_6H_8O_6$ mg	Verbrauch an 0,1n Kaliumjodatlösung ml	Gefunden $C_6H_8O_6$ mg	Abweichung %	Einwaage $C_6H_8O_6$ mg	Verbrauch an 0,1 n Kaliumbijodatlösung ml	Gefunden $C_6H_8O_6$ mg	Abweichung %
440,21	49,99	440,21	± 0	430,79	49,00	431,49	+ 0,16
266,11	30,21	266,03	— 0,03	259,07	29,44	259,25	+ 0,07
177,70	20,29	177,79	+ 0,05	173,04	19,65	173,04	± 0
88,68	10,07	88,68	± 0	86,30	9,79	86,21	— 0,1
44,65	5,08	44,73	+ 0,18	43,41	4,94	43,50	+ 0,18
29,71*	33,72*	29,70	— 0,04	30,21	34,34*	30,24	+ 0,09
19,94	22,67*	19,96	+ 0,1	20,25	23,02*	20,27	+ 0,10
9,95	11,32*	9,97	+ 0,2	10,12	11,51*	10,14	+ 0,2
5,01	5,71*	5,03	+ 0,4	5,09	5,77*	5,08	+ 0,2

Tab. 4 enhält die Ergebnisse unserer mit Kaliumjodat- und Kaliumbijodatmaßlösungen ausgeführten Ascorbinsäurebestimmungen in reinen Lösungen.

Tab. 3 (S. 184) zeigt die Resultate einiger praktischer Anwendungen.

Bestimmung mit Eisen(III)-ammoniumsulfat- und Eisen(III)-chloridmaßlösungen

Man versetzt die 50—500 mg Ascorbinsäure enthaltende, neutrale wäßrige Lösung oder den essigsauren Pflanzenextrakt mit 5 ml 0,2 m Essigsäure-Natriumacetatpufferlösung und 3 Tropfen 1%iger Variaminblaulösung und titriert mit der Eisen(III)-maßlösung langsam bis zum Erscheinen der blauen Farbe. Die Eisen(III)-ammoniumsulfatlösung hat gegenüber der Eisen(III)-chloridlösung den Vorteil neutral zu sein, so daß keine Übersäuerungsgefahr der zu titrierenden Lösung droht.

Ergebnisse von auf diese Weise ausgeführten Bestimmungen enthalten die Tab. 5 u. 3.

Tabelle 5

Einwaage $C_6H_8O_6$ mg	Verbrauch an Eisen(III)-chlorid-maßlösung ml	Gefunden $C_6H_8O_6$ mg	Abweichung %	Einwaage $C_6H_8O_6$ mg	Verbrauch an Eisen(III)-ammonium-sulfatlösung ml	Gefunden $C_6H_8O_6$ mg	Abweichung %
440,30	49,99	440,21	— 0,02	440,30	49,97	440,04	— 0,07
281,35	31,92	281,09	— 0,07	271,66	30,86	271,75	+ 0,05
176,82	20,09	176,91	+ 0,06	187,21	21,28	187,39	+ 0,10
93,87	10,66	93,87	± 0	92,90	10,56	92,99	+ 0,09
46,76	5,31	46,76	± 0	45,79	5,21	45,79	+ 0

Zusammenfassung

Es werden Ascorbinsäurebestimmungen mit Chloramin T-, Jod-, Kaliumjodat-, Kaliumbijodat-, Eisen(III)-ammoniumsulfat- und Eisen-(III)-chloridmaßlösungen unter Verwendung von Variaminblau als Indicator beschrieben. Variaminblau besitzt mehrere Vorteile gegenüber den bisher üblichen Indicatoren. Die Verfahren eignen sich auch zur Ascorbinsäurebestimmung in Arzneimitteln und Pflanzenextrakten.

Literatur

[1] Ballentine, R.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **13**, 89 (1941). — [2] Bessey, O. A., u. C. G. King: J. biol. Chemistry **103**, 687 (1933); vgl. diese Z. **102**, 151 (1935). — [3] Erdey, L., u. A. Bodor: diese Z. **137**, 410 (1952/53). — [4] Erdey, L., A. Bodor u. H. Buzás: diese Z. **134**, 22 (1951/52). — [5] Erdey, L., A. Bodor u. M. Pápay: Acta chim. Acad. Sci. hung. **5**, 235 (1955); vgl. diese Z. **148**, 141 (1955/56). — [6] Erdey, L., A. Zalay u. A. Bodor: Vegyip. Kut. Int. Közl. **4**, 16 (1954). — [7] Khormutova, M. A.: Gigiena i Sanitarii **12**, 30 (1947). — [8] Leonhardt, H., u. W. Moeser: diese Z. **122**, 3 (1941). — [9] Lorenz, A. J.: Vortrag am 6. 9. 1934, American Public Health Assoc. — [10] Murthy, K. S., u. C. R. Viswanadham: Proc. nat. Inst. Sci. India **10**, 217 (1944). — [11] Nascimento, R.: Rev. soc. brasil. Quim. **16**, 165 (1947). — [12] Pittarelli, E., u. M. Pittarelli: Biochim. Terap. sperim. **22**,

100 (1938). — [13] Sabaleva, G. I.: Dokl. Akad. Nauk USSR **67**, 226 (1946). — [14] Schulek, E., J. Kovács u. P. Rózsa: diese Z. **121**, 17 (1941). — [15] Stevens, J. W.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **10**, 269 (1938). — [16] Strohecker, R., u. F. Matt: diese Z. **133**, 342 (1951). — [17] Strohecker, R., u. E. Sierp: Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **90**, 93 (1950). — [18] Tauber, H.: Mikrochemie **17**, 111 (1935); vgl. diese Z. **108**, 69 (1937). — [19] Tillmans, J., P. Hirsch u. E. Reinshagen: Z. Unters. Lebensmittel **56**, 272 (1928); vgl. diese Z. **78**, 315 (1929). — [20] Zýka, J.: Pharmazie **9**, 812 (1954); vgl. diese Z. **147**, 439 (1955).

Prof. Dr. L. Erdey, Budapest XI., Gellér-tér 4 (Ungarn)
L. Káplár, Budapest XI., Gellért-tér 4 (Ungarn)

Pharmazeutisch-chemisches Institut und Institut für allgemeine und physikalische Chemie, Universität Szeged (Ungarn)

Über die Reaktion des Adrenalins mit Dikalium-Quecksilber(II)-tetrarhodanid

Identifizierung des entstehenden Adrenochroms auf spektroskopischem und papierchromatographischem Wege

Von
J. Morvay, J. Császár und M. Almásy

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 15. November 1957)

Über die Farbreaktion des Adrenalins mit Dikalium-quecksilber(II)-tetrarhodanid (DHTR) berichtete É. Salgó[12] im Jahre 1953. Wird die wäßrige Lösung des Adrenalins mit DHTR 20 min lang auf dem Wasserbad erwärmt, dann entsteht entsprechend der Konzentration eine rosa- bis rubinrote Färbung, die sich nach É. Salgó, J. Kis u. J. Morvay[13] als Grundlage für eine photometrische Bestimmungsmethode von Adrenalin eignet. Die eingehendere Untersuchung der farbigen Verbindung des Adrenalins mit DHTR und die Ermittlung ihrer Konstitution war schon damals geplant.

Unsere ursprüngliche Vorstellung war, daß entweder das Adrenalin den farbigen Komplex mit DHTR bildet, oder daß das Adrenalin durch DHTR zu Adrenochrom oxydiert, bzw. dieser Reaktionsablauf durch das Reagens gefördert wird.

Im Gange unserer Vorversuche konnte folgendes beobachtet werden:

a) Die wäßrige Lösung der Adrenalinbase verfärbt sich in bekannter Weise in Abhängigkeit von der Temperatur und Art der Aufbewahrung in kürzerer oder längerer Zeit nach Rosa, später nach Braun.

b) Wird die Adrenalinlösung nach unserem oben erwähnten Verfahren mit 1 ml 0,1 n DHTR-Lösung 25 min lang auf dem Wasserbad erwärmt, so tritt eine schöne lebhafte Rosa- oder Rotfärbung auf. Dagegen zeigt die ohne Reagens erwärmte Lösung nach 25 min langem Erwärmen entweder keine oder nur eine unbedeutende Färbung; das Auftreten der Farbe nach der gegebenen Zeit muß also dem Reagens DHTR zugeschrieben werden.

c) Wird die wäßrige Adrenalinlösung ohne DHTR-Reagens längere Zeit hindurch auf dem Wasserbade gehalten, dann verfärbt sich die Flüssigkeit in Abhängigkeit von der Konzentration über Blaßrot nach Gelb oder Braun. Die Farbe und das Spektrum dieses letzten Oxydationszersetzungsproduktes geben keine nähere Aufklärung. Demnach hat das DHTR auch eine ausgesprochene stabilisierende Wirkung.

d) Das mit DHTR erzeugte rosafarbige Reaktionsprodukt fluoresciert unter der Analysenquarzlampe nicht. Nach längerer Zeit kann aber eine gelblichgrüne Fluorescenz wahrgenommen werden, die aller Wahrscheinlichkeit nach der Gegenwart des von A. Lund[10] erwähnten Adrenolutins zuzuschreiben ist. Das Adrenolutin ist das Oxydationsprodukt des Adrenochroms, in mittelbarer Weise auch des Adrenalins, also hat sich hier auch ein Oxydationsvorgang vollzogen.

e) In Gegenwart von Reduktionsmitteln (Ascorbinsäure, Natriumdithionit, Kaliummetabisulfit) kann mit DHTR keine Rosafärbung erreicht werden. Die Anwendung von stabilisierend wirkenden Reduktionsmitteln bei Herstellung der Adrenalininjektionen und Solutionen ist allgemein bekannt. Es gelang uns, das in der wäßrigen Adrenalinlösung während des Stehens entstandene Adrenochrom, das nach McCarthy[11] hergestellte Adrenochrom und das mit DHTR erhaltene farbige Adrenalinprodukt in saurer Lösung mit Kaliummetabisulfit zu reduzieren, wobei eine schwach gelbliche Lösung erhalten wurde. Ebenso wurde das bei den papierchromatographischen Vorversuchen nach der Methode von J. van Espen[3] entwickelte Reaktionsprodukt zwischen Adrenochrom und Adrenalin + DHTR durch das in der Entwicklerlösung vorhandene Natriumbisulfit langsam entfärbt. Die anfangs rosafarbigen Flecken des Papierchromatogramms konnten nach ihrer Entfärbung nur unter der Quarzlampe identifiziert werden.

Die Tatsache, daß das entstandene farbige Produkt und das Adrenochrom mit Hilfe von Reduktionsmitteln rückverwandelt werden, bestätigt den Ablauf eines vorausgegangenen Oxydationsvorganges.

f) Es ist noch von Interesse zu erwähnen, daß das Redoxpotential von DHTR sehr gering ist. Es wurde von uns zu + 80 Millivolt gefunden.

Die Ergebnisse dieser Vorversuche haben unsere Vermutung wahrscheinlicher gemacht, daß bei der Reaktion des Adrenalins mit DHTR kein Komplex, sondern Adrenochrom gebildet wird. Deswegen ist das Reaktionsprodukt so farbbeständig, daß es auch zur quantitativen Bestimmung geeignet ist.

Zum Adrenalinnachweis ist schon mehrfach die Farbreaktion mit Quecksilber(II)-chlorid oder -acetat empfohlen worden (Literaturangaben vgl. bei [12]). Einige Autoren weisen auf die Möglichkeit der Entstehung des Adrenochroms hin, ohne ihre Vermutung bestätigt zu haben. Die Klarstellung dieser Frage ist uns auf spektroskopischem und papierchromatographischem Wege gelungen, worüber im folgenden berichtet werden soll.

Versuche

Es wurde ein vollkommen reines Adrenochrom nach dem Verfahren von McCarthy[11] und J. Harley-Mason[5] dargestellt. Von der Adrenalinbase wurde mit DHTR das farbige Reaktionsprodukt hergestellt. Schließlich wurde die Stammlösung des Adrenalins in Berührung mit der Luft der Oxydation überlassen. Zur Prüfung dieser drei Verbindungen auf Identität wurden die folgenden Untersuchungen ausgeführt.

1. Spektroskopische Untersuchungen

Das Spektrum einer wäßrigen Adrenalinhydrochloridlösung von der Konzentration 0,00995 m, wurde mit dem Beckman DU-Spektrophotometer in der 1 cm-Quarzküvette bei Raumtemperatur ausgemessen. Im Spektrum erscheint bei 280 mμ mit der Höhe log ε = 4,31 ein scharfes Band (Abb. 1, Kurve 1), im Einklang mit den Befunden mehrerer Autoren wie Dhéré[2], Lopez[9] und Graubner[4]. Das Band entspricht der Anregung des Brenzcatechinkernes (Bugyi[1]).

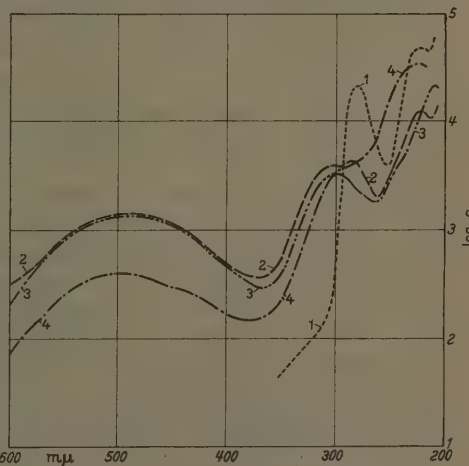


Abb. 1. Absorptionsspektren (Erklärungen siehe Text)

Die bekannte Tatsache, daß sich die wäßrige Lösung des Adrenalins auf Einwirkung des Luftsauerstoffes insbesondere bei einer Temperatur über 10° C nach Rosa verfärbt, wird allgemein auf einen Oxydationsprozeß zurückgeführt, dessen Endergebnis das Adrenalinchinon bzw. das Adrenochrom ist.

Das Spektrum (Abb. 1, Kurve 2) der Lösung (Konz. 0,0001 m) dieser oxydierten Form besitzt bei 490 mμ (log ε = 3,14) ein flaches, breites und bei 295 mμ (log ε = 3,58) ebenfalls ein breites Band. Dieses Spektrum ist ganz ähnlich dem Spektrum (Abb. 1,

Kurve 3) des nach dem Verfahren von McCarthy[11] sowie J. Harley-Mason[5] hergestellten Adrenochroms (Konz. 0,000525 m). Auch dies unterstützt die Annahme, daß sich in wäßriger Lösung der Oxydationsvorgang: Adrenalin → Adrenochrom vollzieht.

Dem Spektrum der oxydierten Adrenalinbase, bzw. des Adrenochroms ist das Spektrum des Adrenalin + DHTR-Systems (Abb. 1, Kurve 4) fast völlig gleich. Eine Differenz besteht nur darin, daß das Band 485 mμ etwas niedriger liegt bzw. das Band 295 mμ nur als starke Inflexion in Erscheinung tritt. Dies ist einer unvollständigen Oxydation bzw. der Eigenabsorption des DHTR zuzuschreiben.

Die Entstehung des Adrenochroms bei der Reaktion Adrenalin + DHTR ist auf spektroskopischem Wege als bewiesen anzusehen.

Die auf Variierung der Konzentration beruhende Methode nach Job[7] zeigt ebenfalls keine ausgesprochene Komplexbildung an. Aus den Ergebnissen kann auf das Vorhandensein eines heterogenen Systems geschlossen werden.

Eine längere Zeit hindurch erwärmte Adrenalinlösung und ebenso die Lösung der Adrenochromkristalle, die längere Zeit gestanden hat, weisen keine charakteristischen Kurvenbilder auf, ein Zeichen dafür, daß die Substanz zersetzt ist und mehrere Zersetzungsprodukte nebeneinander vorhanden sind.

Alle diese Versuchsergebnisse widersprechen der Komplexbildung. Auf Grund des Spektrums kann höchstens von der Salzwirkung des DHTR gesprochen werden.

2. Papierchromatographische Untersuchungen

Um weitere Beweise für die Entstehung des Adrenochroms bei der DHTR-Reaktion des Adrenalins zu erhalten, wurden Adrenalin, das Reagens DHTR, das nach dem oben erwähnten Verfahren hergestellte Adrenochrom und das bei der Reaktion nach Salgó erhaltene rotgefärbte Reaktionsprodukt nebeneinander aufsteigend chromatographiert, wobei wir das von uns etwas abgeänderte Verfahren von J. van Espen[8] verwendeten.

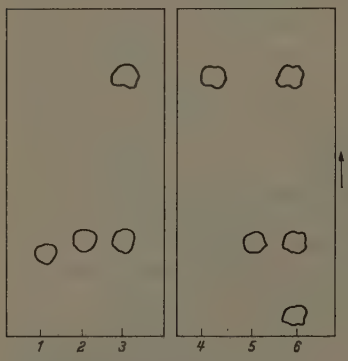


Abb. 2. Papierchromatogramme. *1* Adrenalin „Merck"; *2* Adrenochrom; *3* Adrenalin + DHTR; *4* Reagens DHTR; *5* An der Luft oxydiertes Adrenalin; *6* Zersetztes Adrenalin + DHTR

Zu den Untersuchungen dienten vollkommen reine Lösungen und zwar eine gesättigte wäßrige Lösung von Adrenalin (Merck) und eine ebenfalls gesättigte methylalkoholische Lösung von Adrenochrom. Die Reaktion mit DHTR wurde mit 9 ml Adrenalinlösung und 1 ml 0,1 n Reagenslösung ausgeführt, wobei die höchste Intensität der Färbung nach 20 min währendem Erhitzen auf dem Wasserbad erreicht wurde. Chromatographiert wurde mit Hilfe der von Tuzson[14] empfohlenen Einrichtung bei einer mittleren Temperatur von 25° C.

Von den Stammlösungen wurden etwa 0,04 ml aus einer Mikropipette oder Capillare auf Whatman-Papier Nr. 1 oder Schl. & Sch.-Papier 2043 b aufgetragen, so daß der Durchmesser der Flecke etwa 3 mm betrug.

Als Entwicklerflüssigkeit diente eine aus 100 Teilen Butanol und 10 Teilen Eisessig hergestellte Lösung, die 24 Std lang mit Wasser gesättigt wurde. Die Entwicklungsdauer des Chromatogramms betrug 12 Std. Die Lösungsmittelfront war

im Durchschnitt 25 cm gestiegen. Die getrockneten Papiere wurden mit 20% konz. Ammoniak enthaltendem Methanol besprüht. Nach der Sichtbarmachung trockneten wir die Papiere im Trockenschrank bei 105° C und betrachteten das Chromatogramm unter der Analysenquarzlampe.

Wie aus der Abb. 2 hervorgeht, nehmen die entwickelten roten Flecken des Adrenalins von Merck (*1*), des an der Luft oxydierten Adrenalins (*5*), des Adrenochroms (*2*) und des Reaktionsproduktes von Adrenalin mit DHTR (*3*) ihren Platz in gleicher Höhe ein. Für die Mitte der Flecken erhielten wir die folgenden R_f-Werte:

Adrenalin (Merck):	0,26
Oxydiertes Adrenalin:	0,28
Adrenochrom:	0,29
Adrenalin + DHTR:	0,29

Dies beweist eindeutig, daß auch bei der Reaktion mit DHTR Adrenochrom gebildet wird.

Das gesondert entwickelte DHTR (*4*) ergibt unter der Frontlinie einen Fleck, der unter der Quarzlampe dunkel erscheint und nicht fluoresciert. Sein R_f-Wert beträgt 0,79. Über dem farbigen Reaktionsprodukt mit DHTR läßt sich ebenso der Fleck des DHTR nachweisen, wie das beim mit (*3*) bezeichneten Fleck ersichtlich ist. Das DHTR beeinflußt also nicht den R_f-Wert des durch seine Wirkung entstandenen Adrenochroms.

Der Durchmesser der Flecke betrug nach der Entwicklung im Durchschnitt 1—1,5 cm.

Wenn das Adrenalin zersetzt war (*6*), konnte man die Zersetzungsprodukte, die wahrscheinlich Endprodukte des Oxydationsvorganges sind, etwas über der Startlinie als braunen Fleck mit dem R_f-Wert 0,05 wahrnehmen. Sie sind identisch mit den bei der spektroskopischen Untersuchung erhaltenen Stoffen, die wir dort als nicht einheitlich zusammengesetzte Zersetzungsprodukte bezeichneten.

Nach dem Beweis der Adrenochrombildung wollen wir für die stabilisierende Wirkung von DHTR eine theoretische Erklärung geben.

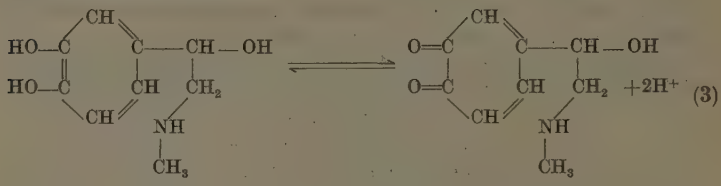
Wir haben beobachtet, daß das mit DHTR erzeugte Adrenochrom viel beständiger ist, als das aus Adrenalin durch den Luftsauerstoff gebildete Oxydationsprodukt. Dieses unterschiedliche Verhalten ist besonders dann augenfällig, wenn man die beiden Reaktionsprodukte längere Zeit auf dem Wasserbad erhitzt. Das an der Luft oxydierte Adrenalin wird weiter oxydiert und zersetzt, was an das Auftreten der gelblichbraunen Farbe erkennbar ist, wogegen das DHTR seine lebhaft rote Farbe unverändert beibehält. Zur Erklärung nehmen wir an, daß das DHTR imstande ist, die Oxydation in einem gewissen Punkte zum Stillstand zu bringen. Aus den Untersuchungen von Köszegi u. Salgó[8] ist bekannt, daß der DHTR-Komplex zwei titrierbare und daher dissoziierbare Rhodanionen enthält. In der ersten Stufe verläuft der Vorgang:

$$K_2Hg(SCN)_4 \rightarrow 2\,K^+ + Hg(SCN)_4^{2-}, \qquad (1)$$

in der 2. Stufe die Dissoziation nach:

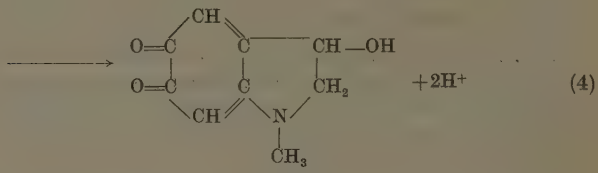
$$Hg(SCN)_4^{2-} \rightarrow Hg(SCN)_2 + 2\,SCN^-. \qquad (2)$$

Bei der Oxydation des Adrenalins (I) entsteht in der ersten Stufe Adrenalinchinon (II) [Shaw 1941], worauf durch Ringschluß Adrenochrom (III) gebildet wird.



(3)

Adrenalin (I) *Adrenalinchinon* (II)



(4)

Adrenochrom (III)

Die entstehenden Wasserstoffionen setzen sich mit den nach Gl. (2) entstandenen Rhodanionen ins Gleichgewicht:

$$H^+ + SCN^- \rightleftarrows HSCN\,. \qquad (5)$$

In der Lösung verbleiben aber [da Rhodanwasserstoffsäure eine verhältnismäßig starke Säure ($K = 10^{-3}$)[6], Adrenalin aber eine schwache Base ist] stets Wasserstoffionen, die unter gewissen Umständen die zum Adrenalinchinon und Adrenochrom führenden Vorgänge [Gl. (3) und (4)] verhindern können. So ist es auch erklärlich, daß die rote Farbe nicht entsteht, wenn die Reaktion beim p_H-Wert $\leqq 6$ selbst bei Gegenwart von DHTR durchgeführt wird. Wenn ein auf anderem Wege hergestelltes Adrenochrom mit DHTR in Reaktion tritt, ist keine stabilisierende Wirkung zu bemerken; wodurch die obige Annahme aufs neue bekräftigt wird.

Zusammenfassung

Es wird festgestellt, daß das Spektrum der bei der Adrenalinreaktion mittels Dikalium-quecksilber(II)-tetrarhodanids entstehenden farbigen Verbindung identisch ist mit dem Spektrum des nach McCarthy und J. H. Mason hergestellten Adrenochroms und mit dem Spektrum der an der Luft oxydierten Lösung der Adrenalinbase.

Bei der aufsteigenden Papierchromatographie unter Anwendung des abgeänderten Verfahrens nach J. van Espen, geben die bei der DHTR-Farbreaktion erhaltene Verbindung und das Adrenochrom die gleichen R-Werte (0,29).

Damit ist auf zwei verschiedenen Wegen bewiesen, daß die untersuchte farbige Verbindung Adrenochrom ist.

Hinsichtlich der stabilisierenden Wirkung von DHTR wird eine theoretische Erklärung gegeben.

Herrn Professor D. Kőszegi sei auch an dieser Stelle aufrichtigst gedankt für das beständige freundliche Interesse, mit dem er unsere Arbeit förderte.

Literatur

[1] Bugyi, B.: Arch. Pharmaz. (1938). — [2] Dhéré: Thése de Sci. Paris (1909). — [3] van Espen, J.: J. Pharmac. Belgique **7**, 531 (1952); vgl. diese Z. **144**, 443 (1955). — [4] Graubner: Z. ges. exp. Med. **63**, 527 (1928). — [5] Harley-Mason, J.: J. chem. Soc. (London) Part II. 1276 (1950). — [6] Ingols, R. S., E. H. Shaw, V. H. Eberhardt and J. C. Hildebrand: Analyt. Chemistry **22**, 799 (1950); vgl. diese Z. **133**, 292 (1951). — [7] Job, A.: Ann. Chim. **9**, 113 (1928). — [8] Kőszegi, D., u. É. Salgó: diese Z. **130**, 403 (1950). — [9] Lopez: Ann. Soc. Sci. argent. **101**, 133 (1926). — [10] Lund, A.: Acta pharmacol. (Kopenhagen) **5**, (75), 121, 231 (1949); **6**, 137 (1950); vgl. diese Z. **133**, 457, 458 (1951). — [11] McCarthy, C. L.: Chim. et ind. **55**, 435 (1946). — [12] Salgó, É.: diese Z. **138**, 101 (1953). — [13] Salgó, É., J. Kis u. J. Morvay: diese Z. **149**, 355 (1956); Magyar Kémiai Folyóirat **62**, 235 (1956). — [14] Tuzson, J.: Kandid. Dissert. Vorgelegt der Ung. Akad. der Wissenschaften (1955).

Dr. József Morvay, Institut für pharmazeutische Chemie der Universität, Szeged, Beloiannisz tér 9 (Ungarn)

Aus dem Institut für Ernährung in Potsdam-Rehbrücke der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin

Zum papierchromatographischen Verhalten einiger Abbauprodukte des Vitamins C

Von

W. Feldheim und M. Czerny

(Eingegangen am 10. März 1958)

Einleitung

Von den Abbauprodukten der Vitamin C-wirksamen Substanzen L-Ascorbinsäure und L-Dehydroascorbinsäure kann die 2,3 Diketo-L-gulonsäure durch Mutarotation der L-Dehydroascorbinsäure in wäßriger Lösung unter Öffnung des Lactonringes gebildet werden. Bei Anwendung starker Oxydationsmittel werden aus L-Ascorbinsäure L-Threonsäure und Oxalsäure unter Aufsprengung der Kohlenstoffkette des Ascorbinsäuremoleküls erhalten[1,3].

Die Möglichkeit des Auffindens kleiner Mengen dieser Abbauprodukte in wäßrigen L-Ascorbinsäurelösungen ist durch die papierchromatographische Arbeitsweise möglich. Während jedoch das papierchromatographische Verhalten der L-Ascorbinsäure und L-Dehydroascorbinsäure

in einer großen Anzahl von Veröffentlichungen beschrieben ist, fehlen Angaben über die 2,3-Diketo-L-gulonsäure und L-Threonsäure fast völlig, wenn man von den Angaben einiger Autoren absieht, die im Auftreten einer neuen unbekannten Substanz, besonders in Chromatogrammen gealterter oder oxydierter Ascorbinsäurelösungen eines der genannten Abbauprodukte vermuten, ohne hierfür den Beweis anzutreten. L. W. Mapson u. S. M. Partridge[4] berichten als erste, daß in Chromatogrammen der L-Ascorbinsäure und L-Dehydroascorbinsäure häufig ein kleiner Fleck auftritt, der einen sehr unterschiedlichen R_f-Wert liefert. Sie vermuten, daß dieser Fleck — durch Öffnen des Lactonringes der L-Dehydroascorbinsäure während der Laufzeit des Chromatogramms entstanden — der 2,3-Diketo-L-gulonsäure zuzuschreiben sei. H. Hasselquist[2] erhält durch papierchromatographische Untersuchung einer mit Salzsäure versetzten Lösung des Bariumsalzes der 2,3-Diketo-L-gulonsäure bei Verwenden des Laufmittels Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:1) einen Fleck in der Nähe der Startlinie, der nach seinen Angaben durch Besprühen des Papiers mit 2,6-Dichlorphenolindophenol in 96%iger alkoholischer Lösung und anschließende Behandlung des Chromatogramms mit Ammoniakdampf sichtbar wird. Chromatographische Untersuchungen einer mit Chinon oder Luftsauerstoff oxydierten, mehrere Wochen alten L-Ascorbinsäurelösung lassen nach den Beobachtungen von M. Ulmann[8] die Anwesenheit einer neuen Substanz erkennen, deren Fleck beim Nachweis durch Besprühen mit ammoniakalischer Silbernitratlösung sichtbar wird. M. Milletti u. A. P. Murroni[5] finden bei der Papierchromatographie autoxydierter L-Ascorbinsäurelösungen im R_f-Bereich 0,09—0,16 einen Fleck, der von den Autoren dem Auftreten der 2,3-Diketo-L-gulonsäure zugeschrieben wird. In der Zusammenstellung Tab. 1 werden die von den zitierten

Tabelle 1. *Literaturangaben zum R_f-Wert einer beim Abbau der L-Ascorbinsäure auftretenden Substanz*

Autor	Jahr	R_f-Werte	
		2,3-Diketo-L-gulonsäure	L-Ascorbinsäure
L. W. Mapson u. S. M. Partridge[4]	1949	0,04—0,07	0,37
H. Hasselquist[2]	1954	0,05—0,15	0,48—0,52
M. Ulmann[8]	1954	0,10	0,38
M. Milletti und A. P. Murroni[5]	1955	0,09—0,16	0,37—0,43

Autoren angegebenen R_f-Werte mitgeteilt, wobei zum Vergleich der in den betreffenden Arbeiten erhaltene R_f-Wert der L-Ascorbinsäure mit verzeichnet ist.

In der vorliegenden Untersuchung werden modifizierte oder neue Verfahren zur Darstellung der 2,3-Diketo-L-gulonsäure und der L-Threonsäure

mitgeteilt. Die Beobachtungen, die bei der papierchromatographischen Untersuchung dieser beiden Substanzen und einiger ihrer Derivate gemacht worden sind, werden — ebenso wie das papierchromatographische Verhalten der als Vergleichssubstanz herangezogenen 2-Keto-L-gulonsäure — ausführlich beschrieben.

Methode

Die Darstellung der *2,3-Diketo-L-gulonsäure* erfolgte aus dem Calciumsalz der Säure[6]. Das Salz erhält man durch Oxydation einer wäßrigen Ascorbinsäurelösung mit Kaliumjodat und Fällung des Salzes aus der Lösung durch Calciumjodid ($C_{12}H_{12}O_{14}Ca \cdot 8\,H_2O$; ber. Ca 7,1%, gef. Ca 7,4%). Die freie Säure gewinnt man durch Behandeln der wäßrigen Lösung des Salzes mit einem Ionenaustauscher (Wofatit F).

Die *L-Threonsäure* wurde auf folgendem Wege dargestellt: Durch Umsatz von L-Ascorbinsäure mit überschüssigem Aceton in Gegenwart von wasserfreiem Kupfersulfat ist das Isopropylidenderivat der L-Ascorbinsäure in guter Ausbeute erhältlich[9]. Durch Permanganatoxydation dieses Derivats bei einer Temperatur unterhalb von 0° C wird nach der Entfernung des Braunsteins das Kaliumsalz der Aceton-L-Threonsäure durch Alkoholextraktion erhalten[7]. Es ist möglich, aus dem umkristallisierten Salz durch Behandlung mit Ionenaustauschern (Wofatiten) und Hydrolyse die L-Threonsäure frei zu machen. Die Säure ist durch ihr Chininsalz charakterisiert

(Smp. 162° C, ber. C = 62,57%, H = 7,01%,
gef. C = 62,47%, H = 6,92%.)

Die *2-Keto-L-gulonsäure*, ein Zwischenprodukt der Ascorbinsäuresynthese, wurde von der Firma Jenapharm zur Verfügung gestellt. Die Substanz diente zu Vergleichszwecken. Durch Umsatz mit Alkalicarbonat oder Alkalihydroxyd (Ammoniak) in der Kälte stellten wir aus der freien Säure das Lithium-, Natrium-, Kalium- und Ammoniumsalz her.

Die *papierchromatographische Trennung* erfolgte auf dem Filtrierpapier der Firma Schl. & Sch. 2043b. Es wurde nach der absteigenden Methode gearbeitet. Als Laufmittel fand ein Gemisch aus n-Butanol, Eisessig und Wasser (4:1:5) Verwendung. Als Sprühreagentien zum Nachweis der Substanzen wurden 0,1 n Silbernitrat in 2%iger ammoniakalischer Lösung (für L-Ascorbinsäure, 2,3-Diketo-L-gulonsäure, 2-Keto-L-gulonsäure und Derivate) sowie eine verdünnte alkoholische Indicatorlösung (für L-Threonsäure) herangezogen. Die Trocknung der Chromatogramme erfolgte nach dem Besprühen durch Aufbewahren im Trockenschrank bei 100° C für 5 min.

Ergebnisse

Wenn man die freie 2,3-Diketo-L-gulonsäure unter den angegebenen Bedingungen chromatographiert, so erhält man für die Säure einen Fleck mit dem R_f-Wert 0,11—0,14, bei einem Vergleichswert von $R_f = 0{,}36$ bis 0,38 für L-Ascorbinsäure. Wird an Stelle einer frischen L-Ascorbinsäurelösung eine mehrere Tage alte untersucht, so tritt ein zusätzlicher Fleck auf, dessen R_f-Wert mit dem der präparativ dargestellten 2,3-Diketo-L-gulonsäure identisch ist. Der Fleck der Säure läßt sich durch

Besprühen mit Silbernitratlösung gelb anfärben, die Farbe wird durch Erhitzung des Papiers wesentlich verstärkt. Ähnlich verhält sich auch das Calciumsalz der 2,3-Diketo-L-gulonsäure.

Der R_f-Wert der L-Threonsäure ist mit dem der L-Ascorbinsäure identisch. Der Flecken läßt sich durch Silbernitrat nicht anfärben, kann aber auf Grund der sauren Eigenschaften der Substanz durch Besprühen mit einer verdünnten alkoholischen Methylorangelösung sichtbar gemacht werden.

Tabelle 2. *R_f-Werte der untersuchten Substanzen* (Papier: Schl. & Sch. 2043b; Laufmittel: n-Butanol-Eisessig-Wasser [4:1:5])

Substanz	R_f-Werte
L-Ascorbinsäure	0,36—0,38
2,3-Diketo-L-gulonsäure	0,11—0,14
Calciumsalz der Säure	0,38
L-Threonsäure	0,37—0,40
2-Keto-L-gulonsäure	0,14—0,16
Lithium-, Natrium-, Kalium- und Ammoniumsalz der Säure	0,10—0,12

Die Vergleichssubstanz 2-Keto-L-gulonsäure ergibt einen ähnlichen R_f-Wert wie die 2,3-Diketo-L-gulonsäure; da jedoch die Monoketosäure nicht unter den Abbauprodukten der L-Ascorbinsäure vorkommt, ergeben sich hieraus keine Komplikationen. Bemerkt sei, daß in der aus technischer 2-Keto-L-gulonsäure durch Umkristallisation in kochendem Wasser gewonnenen reinen Säure geringe Mengen L-Ascorbinsäure vorhanden sind, die sich papierchromatographisch gut nachweisen lassen. Die Alkalisalze der 2-Keto-L-gulonsäure zeigen einen anderen R_f-Wert als die freie Säure. In Tab. 2 werden die gefundenen R_f-Werte aller untersuchten Substanzen mitgeteilt.

Diskussion

Die papierchromatographischen Untersuchungen der Abbauprodukte der L-Ascorbinsäure haben ergeben, daß der in Chromatogrammen ascorbinsäurehaltigen Untersuchungsmaterials häufig, besonders bei Verwendung älterer Lösungen, auftretende Fleck mit einem R_f-Wert von 0,10—0,15 eindeutig der 2,3-Diketo-L-gulonsäure zuzuordnen ist. Aus den vorliegenden Beobachtungen ergibt sich, daß bei papierchromatographischen Untersuchungen von Vitamin C-haltigem Material zum Zwecke der analytischen Bestimmung folgendes beobachtet werden muß: Da im Laufe der Untersuchung ein Teil des Vitamins in die biologisch unwirksame 2,3-Diketo-L-gulonsäure umgewandelt werden kann, muß beim Auftreten dieser Säure im Chromatogramm bei der Berechnung des ursprünglichen Gehalts der Probe an Vitamin C der für die 2,3-Diketo-L-gulonsäure gefundene Wert mit berücksichtigt werden. Durch die Bildung der 2,3-Diketo-L-gulonsäure während der Untersuchung können Differenzen der Ergebnisse im Vergleich mit titrimetrischen Untersuchungen auftreten, da hier die Untersuchungsdauer viel geringer ist.

Es empfiehlt sich also, die quantitative Vitamin C-Bestimmung sofort nach Entnahme der Probe und möglichst schnell durchzuführen, um das Auftreten von größeren Mengen 2,3-Diketo-L-gulonsäure zu verhindern.

Zusammenfassung

Die Abbauprodukte des Vitamins C, die 2,3-Diketo-L-gulonsäure und die L-Threonsäure, wurden hergestellt und ihre Lösungen papierchromatographisch charakterisiert. Der in Chromatogrammen von Ascorbinsäure enthaltendem Material häufig auftretende Fleck mit dem R_f-Wert 0,11—0,14 ist als der 2,3-Diketo-L-gulonsäure zugehörig erkannt worden. Der R_f-Wert der als Vergleichssubstanz herangezogenen 2-Keto-L-gulonsäure beträgt 0,14—0,16, der ihrer Alkalisalze 0,10—0,12.

Literatur

[1] v. Euler, H., u. H. Hasselquist: Ark. Kemi **5**, 49 (1952). — [2] Hasselquist, H.: Ark. Kemi **7**, 121 (1954). — [3] Herbert, R. W., E. L. Hirst, E. G. V. Percival, R. J. W. Reynolds und F. Smith: J. chem. Soc. (London) **1933**, 1270. — [4] Mapson, L. W., u. S. M. Partridge: Nature (London) **164**, 478 (1949). — [5] Milletti, M., u. A. P. Murroni: Sperimentale, Sez. chim. biol. **6**, 72 (1955). — [6] Penney, J. R., u. S. S. Zilva: Biochemic. J. **39**, 1 (1945). — [7] Reichstein, T., A. Grüssner und W. Bosshard: Helv. chim. Acta **18**, 602 (1935). — [8] Ulmann, M.: Pharmazie **9**, 523 (1954); vgl. diese Z. **147**, 298 (1955). — [9] v. Vargha, L.: Nature (London) **130**, 847 (1932).

Dr. Walter Feldheim, Potsdam-Rehbrücke, Eichhörnchenweg 37

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

I. Allgemeine analytische Methoden, Apparate und Reagentien

Literatur. I. M. Kolthoff, R. Belcher, V. A. Stenger und G. Matsuyama, *Volumetric Analysis. Volume III. Titration Methods: Oxidation-Reduction Reactions.* IX, 714 Seiten. Interscience Publishers, Inc., New York 1957. Preis 15,00 $.

Das klassische Werk von Kolthoff, „Die Maßanalyse", hat in seiner zweiten englischen Ausgabe eine sehr starke Erweiterung erfahren. Es umfaßt jetzt 3 Bände, von denen die beiden ersten, von I. M. Kolthoff und V. A. Stenger bearbeitet, in den Jahren 1942 bzw. 1947 erschienen sind. Der 1. Band (325 Seiten) behandelt die theoretischen Grundlagen der Maßanalyse, der 2. Band (388 Seiten) die Säure-Base-Titrationen, die Fällungsmaßanalysen und die Komplexbildungsreaktionen. Der vorliegende 3. und letzte Band mit den Oxydations-Reduktionstitrationen beansprucht den größten Umfang. Ein in den letzten Jahrzehnten ungeheuer angewachsenes Material ist hier in bekannt ausgezeichneter Weise klar und übersichtlich unter Vermeidung jeder Weitschweifigkeit dargestellt. Ausführliche Namen- und Sachregister erleichtern das Auffinden der gesuchten Methode. Die Literatur ist bis in die letzte Zeit mit nahezu 2500 Zitaten berücksichtigt. Das Standardwerk von Kolthoff bedarf keiner besonderen Empfehlung. Es ist für jeden analytischen Chemiker schlechthin unentbehrlich, der sich über den gegenwärtigen Stand der Maßanalyse unterrichten will.

W. Jost, *Diffusion. Methoden der Messung und Auswertung* (Band I der Sammlung „Fortschritte der physikalischen Chemie", herausgegeben von W. Jost). X, 177 Seiten mit 57 Abbildungen in 64 Einzeldarstellungen und 19 Tabellen. Verlag Dr. Dietrich Steinkopff, Darmstadt 1957. Preis brosch. 25,— DM.

Die von Prof. Dr. W. Jost herausgegebene Sammlung „Fortschritte der physikalischen Chemie" hat den Zweck, die in der Industrie, Forschung oder Lehre tätigen Wissenschaftler in kleinen Bändchen über den neuesten Stand der verschiedenen Teilgebiete der physikalischen Chemie zu unterrichten. Der Name des Herausgebers, der auch die vorliegende erste Monographie geschrieben hat, bürgt für den hohen Wert der Sammlung. Weitere Bändchen sollen in rascher Folge erscheinen.

XVI. Internationaler Kongreß für reine und angewandte Chemie, Paris, 18. bis 24. VII. 1957. Hauptvorträge (Experientia Supplementum VII). 355 Seiten. Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart 1957. Preis geb. 36,— sFr.

Der Band enthält den Hauptvortrag zur Hundertjahrfeier der „Société chimique de France" von C. N. Hinshelwood, *Réflexions sur la cinétique chimique*, den Eröffnungsvortrag des XVI. Kongresses von G. Natta, *Catalyse stéréospécifique et polymères stéréo-isomériques. Préparation de fibres, matières plastiques et élastomères nouveaux*, und die Hauptvorträge auf den Gebieten der physikalischen, anorganischen und organischen Chemie: G. T. Seaborg, *Recent Research on the Actinide Elements*; R. G. W. Norrish, *The Study of Combustion by Kinetic Spectroscopy*; R. M. Barber, *Some Properties of Water in Crystals*; S. R. de Groot, *Sur la théorie thermodynamique de la diffusion*; C. Ouellet, *Étude de réactions rapides au moyen du spectromètre de masse*; H. Haraldsen, *Die Chalkogenide der Übergangselemente*; E. Wiberg, *Neuere Entwicklungslinien der Borchemie*; A. G. Maddock, *Protactinium and Neighbouring Elements*; L. Brewer, *High Temperature Chemistry. A. Pioneering Field*; H. Nowotny und A. Wittmann, *La synthèse et les propriétés des combinaisons minérales du germanium*; V. Prelog, *Untersuchungen von transanularen Eliminationen und Substitutionen mit Hilfe von Isotopen*; P. D. Bartlett, *The Initiation of Organic Chain Reactions*; G. Wittig, *Komplexbildung und Reaktivität in der metallorganischen Chemie*; T. Nozoe, *Chemistry of Natural Tropolone and Allied Compounds*; L. Marion, *Structure de quelques alcaloides du delphinium*; A. Terenin, *Photoréactions électroniques des colorants organiques.* A. Kurtenacker

Committee on Colorimetry, Optical Society of America, The Science of Color. XIII, 385 Seiten mit 25 farbigen Bildtafeln und 102 Abbildungen. Verlag Thomas Y. Crowell Comp., New York 1953. Preis 7,00 $.

Die Farbwissenschaft mit Einschluß der Farbmessung haben zu vielen Wissenschaften und Künsten Beziehungen, so zur Physik, Chemie, Histologie, Physiologie, Psychologie, zur Architektur, Dekoration, Illumination und den graphischen Künsten. Da eine Person nicht alle diese Gebiete in gleicher Weise beherrschen kann, ist ein Buch wie das vorliegende notwendigerweise ein Gemeinschaftswerk, in diesem Fall ein Werk der Zusammenarbeit zahlreicher amerikanischer Fachleute auf den einzelnen Spezialgebieten. Nach einer historischen Einleitung werden in lose aneinander gereihten Kapiteln Fragen der Anatomie, Physiologie, Psychologie, Psychophysik usw. behandelt. Besondere Abschnitte beschäftigen sich mit der Strahlungsenergie und ihrer Messung, mit den Methoden der Colorimetrie, den Colorimetern und den Farbstandards. Ein umfassendes Fachwörterverzeichnis (23 Seiten) und mehr als 600 Literaturhinweise beschließen das ausgezeichnet ausgestattete Werk. W. Gottwald

W. Wittenberger, *Die Ausbildung der technischen Hilfskräfte des Chemikers.* 96 Seiten. W. Bertelsmann Verlag KG., Bielefeld 1954. Preis brosch. 4,75 DM.

In der vorliegenden Schrift gibt der Verf. aus seiner vielseitigen Erfahrung heraus eine umfassende Darstellung der Ausbildungsprobleme der chemischen Industrie. Er bespricht die Grundrichtlinien für die Ausbildung von Laboranten und Chemiefacharbeitern. Die Durchführung muß in jedem Betrieb nach seinen besonderen Verhältnissen erfolgen. Hierzu werden Beispiele für die Ausarbeitung von Ausbildungsplänen gegeben. Die Gestaltung des Unterrichtes wird ausführlich besprochen. Es folgen Abschnitte über die Prüfungen, über den Ausbilder, ein kurzer Abschnitt über die Chemotechniker-Ausbildung, über die Erwachsenenschulung und schließlich Angaben über die Berufsausbildung im Ausland. Die Schrift wendet sich in erster Linie an die Ausbildungsleiter, sie wird aber auch dem Berufsschullehrer manche Anregung bieten und dürfte darüber hinaus für jeden in der Industrie beschäftigten Chemiker von Interesse sein.

W. Wittenberger, *Chemische Laboratoriumstechnik. Ein Hilfsbuch für Laboranten und Fachschüler.* Fünfte, verbesserte und vermehrte Auflage. XI, 352 Seiten mit 397 Textabbildungen. Springer-Verlag, Wien 1957. Preis Ganzleinen 22,— DM.

Das bekannte Laboratoriumsbuch von Wittenberger hat seit dem Erscheinen seiner 1. Auflage[1] im Jahre 1942 eine starke Erweiterung erfahren. Zahlreiche praktische Hinweise sind neu aufgenommen worden, die Weiterentwicklung der Laboratoriumsgeräte und Arbeitsverfahren hat die notwendige Berücksichtigung gefunden, auf die modernen physikalisch-chemischen Methoden ist hingewiesen. Die bewährte Einteilung sowie die Art der Darstellung sind beibehalten worden. So wird das Werk auch weiterhin dem Chemikernachwuchs ein wertvoller Ratgeber sein.

[1] Vgl. diese Z. **125**, 427 (1943). A. Kurtenacker

J. Duclaux, *Centrifuges et Ultracentrifuges.* 126 Seiten mit 46 Abbildungen. Nr. 1228 der Actualités scientifiques et industrielles. Verlag Hermann & Co., Paris 1955. Preis geh. 800,— ffrs.

Nach einer ausführlichen Schilderung der Theorie der Zentrifugen und Ultrazentrifugen führt der Verf. einige Beispiele ihrer Anwendungen an, die besonders auf den Gebieten der Biochemie und der physiologischen Chemie liegen. O. Fuchs

Der gesamte Fehler chemisch-analytischer Messungen setzt sich aus im allgemeinen ungleichen Fehleranteilen der einzelnen Verfahrensschritte zusammen, wobei in der Regel der größte Teil des Gesamtfehlers durch einen einzigen Schritt oder durch wenige Verfahrensschritte zustande kommt. Die Erkennnng dieser Fehlerquellen und ihre Eliminierung ist nach R. H. Matthias[1] ohne zeitraubende und kostspielige Mehrfachanalysen dadurch möglich, daß man die genügend große, homogene Anfangsprobe bei jedem der nachfolgenden Verfahrensschritte in eine genügende Anzahl von Unterproben aufteilt und die an der großen Anzahl von Endproben gemessenen Werte in geeigneter Weise statistisch auswertet (R. L. Anderson und T. A. Bancroft[2]). Verf. zeigt dies am Beispiel von Viscositätsmessungen an polymerem Material; das Verfahren erfordert zur Gewinnung des Meßwertes drei Schritte, von denen der zweite, eine Waschung des Probematerials, nach Ausweis der statistischen Auswertung den hauptsächlichen Fehleranteil bedingt. Durch Verbesserung dieses Schrittes wurde der Gesamtfehler erheblich reduziert. — Verf. behandelt weiterhin die Art und Zweckmäßigkeit der Probenaufteilung hinsichtlich Analysenzeit und -kosten.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1046—1048 (1957). E. I. du Pont de Nemours & Co., Inc., Niagara Falls, N. Y. (USA). — [2] Statistical Theory in Research, S. 313—337, McGraw-Hill, New York 1952. H. Hartkamp

Massenspektrometrie. *Zur Heliumbestimmung im Mikrogrammbereich haben* C. E. Davis, R. H. Hunt und M. J. O'Neal jr.[1] eine massenspektrometrische Methode verwendet. Die Verff. haben das 21-103-Massenspektrometer verwendet, jedoch den Anzeigeverstärker durch das Applied-Physics-Modell 36, und den Ausgangssignalgeber durch das System 34-104 der Spectro-Sadic ersetzt. Sie erreichen eine 1000fache Empfindlichkeit gegenüber den normalen Arbeitsbedingungen des Massenspektrometers. Man eicht zunächst mit bekannten Heliummengen und kann anschließend wie üblich aus der Intensität des Heliumsignals die Heliummenge in der Probe bestimmen.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1720 (1957). Shell Oil Co., Houston, Tex. (USA).
Klaus Brodersen

Die bisher angewandte Methode zur *massenspektrometrischen Analyse von Stickstoff* durch Überführung des Stickstoffs *organischer Substanzen* usw. in Ammoniak und dessen Oxydation mit NaBrO zu elementarem Stickstoff ist nach Feststellungen von J. B. Capindale und D. H. Tomlin[1] nicht genügend genau. Der Korrektionsfaktor für eingedrungene Luft wurde bisher nach Rittenberg[2] durch Messung des Peaks der Massenzahl 32 ($^{16}O_2$) bestimmt. Die Autoren mußten feststellen, daß bei der Oxydation je nach Alter und Aufbewahrungsart der Hypobromitlösung verschieden große Sauerstoffmengen freigemacht werden. Sie empfehlen daher, den Peak der Massenzahl 40 (A^+) zuerst mit dem der Massenzahl 32 zu vergleichen. Ergibt es sich, daß das Vergleichsergebnis nicht übereinstimmt, so muß zur Luftkorrektur der Peakwert der Massenzahl 40 herangezogen werden, da nur dieser verläßlich ist. Leider ist er meist auch sehr klein, so daß die Genauigkeit nur gering ist. Stimmt das Vergleichsergebnis überein, so kann der Peakwert der Massenzahl 32 zur Korrektur benutzt werden. — Ein weiterer Fehler ist bisher gemacht worden, indem der oft beobachtete Peak bei der Massenzahl 44 dem $^{12}C^{16}O_2$ zugeschrieben wurde. Durch Messung der Peakhöhenverhältnisse der Massenzahlen 44 und 45 konnten die Verff. wahrscheinlich machen, daß der Peak bei Masse 44 durch N_2O erzeugt wird. Von Clusius und Rechnitz[3] wurde die Bildung von N_2O aus Ammoniumsalzen und Alkalihypobromit festgestellt. Es ist infolgedessen eine Korrektur wegen CO_2-Gehaltes nicht angebracht.

[1] Nature (London) **180**, 701—702 (1957). Univ. Calif. and Univ. Reading (USA). — [2] Preparation and Measurement of Isotopic Tracers; Edwards, Ann Harbour, Michigan, 1947. — [3] Helv. chim. Acta **36**, 59 (1953). J. Rasch

Über die durch Kohlenmonoxydbildung bei der Untersuchung sauerstoffhaltiger Gase im Massenspektrometer verursachten Fehler berichten G. F. Crable und N. F. Kerr[1]. Sie benutzten dazu ein verbessertes Massenspektrometer des Typs 21-102 der Consolidated Electrodynamics Co. unter Austausch der normalen Ionenquelle gegen ein Isatron. Bei einer normalen Analyse wurden in einer Sauerstoffprobe, in der nach der Infrarotanalyse nicht mehr als 0,06 Mol-% CO enthalten waren mit dem Massenspektrometer 5 Mol-% gefunden. Zwischen dem Sauerstoffdruck und dem Ionenstrom der Masse 28 entsprechend der gebildeten Menge CO, konnte ein linearer Zusammenhang aufgedeckt werden. Ein neuer Heizdraht in der Ionenquelle zeigte ein um 14% niedrigeres CO/O_2-Verhältnis als ein bereits längere Zeit gebrauchter. Wird vor einer O_2-Analyse z. B. 2-Buten analysiert, so ist das CO/O_2-Verhältnis sogar um 20% höher als normal. Der Einfluß der Chromnickel-Heizspirale, die die Ionenquelle auf 250° C hält, ist ebenfalls erheblich. Wird diese Heizung abgeschaltet, so sinkt das CO/O_2-Verhältnis um 62,4%. Die Temperatur der Ionenquelle selbst hat dagegen keinen nachweisbaren Einfluß. Die Verff. zeigen, daß der C-Gehalt der Heizdrähte die Ursache für die CO-Bildung ist. Die Messung

der Intensität der Sauerstoffionen läßt den Schluß zu, daß die C-Atome auf den heißen Metalloberflächen gegen O-Atome ausgetauscht werden. Die Verff. erwarten daher bei der Analyse von Stickstoff- oder Schwefeloxyden oder ähnlichen hochoxydierten und reaktionsfähigen Substanzen bei ähnlich gebauten Ionenquellen mit carbidhaltigen Heizdrähten gleichartige Erscheinungen mit dem Effekt falscher Analysenergebnisse.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1281—1282 (1957). Gulf Res. Developm. Co., Pittsburgh, Pa. (USA). J. Rasch

Zur Bestimmung des spaltbaren Uran-235 in den *im Reaktor verbrauchten Brennelementen* haben P. Goris, W. E. Duffy und F. H. Tingey[1] das Prinzip der *Isotopen-Verdünnungsanalyse* in Verbindung mit der *Massenspektrometrie* verwendet. Man löst die gebrauchten Brennelemente in Säure und trennt das Uran von den Spaltprodukten nach dem Extraktionsverfahren. Zur Bestimmung des Verhältnisses der Uranisotope setzt man eine Uranlösung bekannten Uranisotopen-Gehaltes und -Verhältnisses zu, und bestimmt anschließend im Massenspektrometer die Uranisotopen-Verhältnisse. Nach der bekannten Formel der Verdünnungsanalyse läßt sich so in der Probe das Isotopenverhältnis angeben. Eine Analyse ist in etwa 2 Std auszuführen. Die Einzelheiten des Verfahrens sind im Original genau beschrieben.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1590—1592 (1957). Atom. Energ. Div., Phillips Petroleum Co., Idaho Falls (USA). Klaus Brodersen

Ein Massenspektrometer mit einer Oberflächen-Ionenquelle zur Analyse von Uranproben beschreiben M. W. Echo und T. D. Morgan[1]. Der Probenwechsel kann in kürzester Zeit vorgenommen werden, das Vakuum erreicht 5 min nach dem Wechsel wieder $3 \cdot 10^{-7}$ Torr. Das Instrument ist hauptsächlich zur Bestimmung der Anreicherung von Uran in Lösungen und zur Messung der isotopischen Verteilung benutzt worden. Insgesamt sind 1500 Analysen ausgeführt worden. Zur Kontrolle dient ein Standard mit ^{234}U, ^{236}U, ^{238}U und etwa 90% ^{235}U. Die 95%ige Genauigkeit einer Einzelbestimmung für ^{235}U beträgt bei diesem Standard $\pm$ 0,11%. Weiterhin sind 23 Proben normalen Uranoxyds untersucht worden. Die Grenze für die 95%ige Genauigkeit für das Verhältnis von $^{238}U/^{235}U$ beträgt bei einem Peakverhältnis von 138,8:1 $\pm$ 0,3 Einheiten. Zur Konzentrationsbestimmung und zur Messung der isotopischen Verteilung von Proben von Spaltprodukten dient die Isotopenverdünnungsmethode, wie sie von P. Goris, W. E. Duffy und F. H. Tingey[2] beschrieben worden ist.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1593—1596 (1957). Atomic Energy Div., Phillips Petroleum Co., Idaho Falls (USA). — [2] Analyt. Chemistry **29**, 1590 (1957); vgl. das vorstehende Referat. J. Rasch

Zur Messung der absoluten Zerfallsrate weicher Betastrahler gibt W. F. Libby[1] eine neue Meßmethodik an, bei der die pulverförmige Probe in einen zylindrischen Hohlraum aus Kunststoff um das Geiger-Müller-Zählrohr gebracht wird. Durch diese Art der Messung werden der Einfluß der Rückstreuung der weichen Strahlung, die nach den Untersuchungen von A. D. Suttle, jr. und W. F. Libby[2] auch von der Rauhheit der Oberfläche des rückstreuenden Materials und natürlich von der Ordnungszahl des rückstreuenden Elementes abhängt, und damit unkontrollierbare Fehler ausgeschaltet. Der Verf. hat diese Meßmethodik auf die *Bestimmung der Halbwertszeit des natürlich vorkommenden Rubidiums-87* angewendet und kommt zu einem Wert von 49,6—51,1 Billionen Jahren. Der Verf. weist darauf

hin, daß sich seine neue Methodik, die im Original sehr ausführlich beschrieben ist, für Messungen der absoluten Aktivität von ^{14}C, ^{36}Cl, ^{35}S und ^{45}Ca eignet.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1566—1570 (1957). Carnegie Inst., Washington, D.C. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **27**, 921 (1955). KLAUS BRODERSEN

Die Anwendbarkeit radioaktiver Isotope für die Analyse von Salzgemischen untersucht B. F. FURSENKO[1] an Lösungsgemischen von Natrium- und Calciumsulfat, die ^{45}Ca und ^{35}S enthalten. Die Gesamtintensität der β-Strahlung wird durch ein Aluminiumfilter gemessen, die Einzelstrahlung und damit der Gehalt werden rechnerisch ermittelt. In einigen Fällen treten Fehler bis zu 50% auf.

[1] Zavodskaja Laborat. **23**, 410—411 (1957) [Russisch]. Inst. Eisenbahntransport-Ingenieure, Rostov. W. BÖHM

Über die radiometrische Analyse von Silber und Jod sowie von Aluminium und anderen hydrolysierbaren Ionen mit Jod-131 als Leitisotop berichten B. C. PURKAYASTHA und V. R. PAI VERNEKER[1]. Die Verff. versetzen bei der Silberbestimmung die saure Analysenlösung mit einem Überschuß einer Kaliumjodidlösung bekannten Gehaltes und bekannter spezifischer Radioaktivität und setzen Zirkoniumphosphat als Träger zu. Das Silberjodid wird vom Träger selbst bei Vorliegen von kleinsten Mengen, die unter der Löslichkeitsgrenze des Silberjodides liegen, quantitativ mitgerissen, so daß durch Bestimmung der Radioaktivität im Filtrat die zu bestimmende Silbermenge ermittelt werden kann. Etwa 1 μg Silber läßt sich so innerhalb $^1/_2$ Std auf $\pm$ 2% genau bestimmen. Mit einer bekannten Silbermenge läßt sich umgekehrt eine unbekannte Jodidmenge ermitteln. — *Bestimmung von Silber und Jod.* Man versetzt die einige μg Silber enthaltende Probelösung in einem Becherglas mit der etwa 3fach äquivalenten Menge einer Kaliumjodidlösung, die eine bekannte spezifische Aktivität durch Jod-131 enthält. Vor dem Zusatz macht man die Lösung etwa 0,1 n salpetersauer und versetzt mit Zirkoniumperchloratlösung, die etwa 1 mg Zirkonium enthalten soll. Nach der Kaliumjodidzugabe versetzt man die Lösung mit einem geringen Überschuß Natriumdihydrogenphosphatlösung, erwärmt einige Minuten lang, filtriert, wäscht mit 15 ml Wasser, und bestimmt mit einem Flüssigkeitszählrohr die Aktivität im Filtrat. Das Gesamtvolumen soll während der Fällung 20 ml nicht überschreiten. — *Aluminium* läßt sich in Mengen von etwa 40 μg noch bestimmen, indem man die Aluminiumsalzlösung bei Anwesenheit eines Kaliumjodid-Jodatgemisches der Hydrolyse unterwirft. Die bei der Hydrolyse entstehenden Wasserstoffionen setzen aus dem Jodid-Jodatgemisch in der bekannten Weise Jod in Freiheit, das abdestilliert und in Natronlauge aufgefangen werden kann. Bei Verwendung von mit Jod-131 indizierten Reagentien kann aus der Radioaktivitätsbestimmung im Destillat durch die oben beschriebene Methode oder durch radioaktive Verdünnungsanalyse die überdestillierte Jodmenge und damit das Aluminium bestimmt werden. Die Verff. deuten an, daß sich alle Salze schwacher, also hydrolysierbarer Basen so bestimmen lassen, weisen jedoch darauf hin, daß ihre Arbeiten in dieser Richtung noch nicht abgeschlossen sind.

[1] J. Indian chem. Soc. **34**, 487—493 (1957). Inst. Nuclear Physics, Calcutta (Indien). KLAUS BRODERSEN

Scintillationszähler. W. SEAMAN[1] beschreibt *einen einfachen Zähler mit Flüssigkeitsfüllung* und einem *Sekundärelektronenvervielfacher* (RCA-5819) Als Scintillationsflüssigkeit hat der Verf. eine Lösung von 2,5 g p-Terphenyl und 5 mg Diphenylhexatrien in 500 ml Toluol verwendet. Man löst eine abgewogene Menge der

auf ihre Radioaktivität hin zu untersuchenden Probe in 10 ml dieser Scintillationsflüssigkeit, läßt die Zelle, welche im Original beschrieben ist, $^1/_2$ Std im Dunkeln stehen, bringt vorher zwischen Multiplier und aufgegebene Lösung etwas Siliconöl (Dow-Corning-200, Viscosität 1000 cSt bei 25° C) und kann nach Einschaltung der Hochspannung mit der Aktivitätsmessung beginnen. Der Verf. zeigt am Beispiel der *Naphthalinbestimmung in Teeröl nach dem Prinzip der Verdünnungsanalyse* mit ^{14}C-Naphthalin und am Beispiel der Bestimmung des *mit Tritium markierten Trioleins* die Brauchbarkeit seiner Methode für normale analytische Aufgaben. Für die Messung kleinster Aktivitätsmengen eignet sich die Methode nicht.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1570—1573 (1957). Amer. Cyanamid Co., Bound Brook, N.J. (USA). KLAUS BRODERSEN

Über einen verbesserten Scintillationszähler mit Na(Tl)J-Kristall, der bei kleinen und großen Probemengen (3—20 ml) die gleiche Erfassung der Strahlung radioaktiver, gelöster Isotope gewährleistet, berichten W. J. MACINTYRE und J. H. CHRISTIE[1]. Auch für radioaktive Präparate, die ihre Aktivität inhomogen verteilt enthalten, z. B. *Blut*, ist der Zähler gut zu verwenden. Der Kristall (je 5,08 cm Durchmesser und Höhe) besitzt ein Bohrloch, (2,9 cm ⌀, 3,8 cm Tiefe) das mit Messing ausgekleidet ist und Glasrohre von 2,4 cm ⌀ einzuführen gestattet. Direkt an den Kristall setzt man den Photomultiplier (RCA 5819 oder Dumont 6292). Der Kristall ist auf allen Seiten von einem 5,08 cm dicken Bleimantel in einer Höhe von 22,9 cm umgeben. — Die Verff. haben mit diesem Zähler die *^{131}J-Aktivität in Blut* nach intravenöser Injektion von 10 μC ^{131}J gemessen. Die Ergebnisse sind viel weniger vom Probevolumen abhängig als bei den üblichen Zählern, außerdem sind die Impulsraten im Gegensatz zu den Verhältnissen bei den konventionellen Zählern sofort nach der Blutentnahme, nach $^1/_2$ Std und nach Zentrifugieren gleich.

[1] J. Lab. clin. Med. **50**, 653—656 (1957). Univ. Cleveland, Ohio (USA).
KLAUS BRODERSEN

Porositätsbestimmung. G. L. CLARK und C. H. LIU[1] errechnen die Porosität aus der Absorption einer monochromatischen Röntgenstrahlung. Wenn der lineare Absorptionskoeffizient bekannt ist und in dem porösen Material keine Vorzugsrichtung existiert, eignet sich diese Methode besonders zu routinemäßigen Betriebskontrollen, weil sie zerstörungsfrei und schnell arbeitet. Die Porosität P ergibt sich aus folgender Gleichung: $P = 1 + \frac{2{,}303 \lg I/I_o}{\mu X_a}$, wobei $\lg I/I_0$ der Logarithmus des gemessenen Intensitätsverhältnisses zwischen geschwächtem und ungeschwächtem Strahl, μ der lineare Absorptionskoeffizient und X_a die Schichtdicke des durchstrahlten porösen Körpers ist. (Im Original ist in der Gleichung ein Druckfehler.) Wenn der Absorptionskoeffizient nicht bekannt ist, muß er zuvor aus der Gleichung bestimmt werden, nachdem für einen Körper bekannter und gleichmäßiger Porosität das Intensitätsverhältnis gemessen worden ist. Die Verff. benutzen die durch Zirkoniumoxyd gefilterte Molybdänstrahlung (40 kV, 10 Milliamp.). Die Mittelwerte der durch Röntgenstrahlabsorption gemessenen Porositäten stimmen zufriedenstellend mit pyknometrisch gefundenen Werten überein.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1539—1541 (1957). Univ. Urbana, Ill. F. ROSENDAHL

Die Bestimmung von Verunreinigungen durch Aufnahme der Schmelz- und Erstarrungskurven wird von E. F. G. HERINGTON[1] kritisch untersucht, da bei diesen Methoden häufig große Differenzen auftreten. Wesentlich ist besonders bei Aufnahme der Erstarrungskurve, daß sich das System im thermodynamischen Gleichgewicht befindet; dessen Einstellung kann durch kräftiges Rühren begünstigt

werden. Auch viscose Flüssigkeiten ergeben leicht falsche Werte. Der Gehalt an Verunreinigungen kann durch Vergleich mit der reinen Substanz graphisch oder rechnerisch ermittelt werden. — Schließlich werden zwei Apparaturen zur Aufnahme von Schmelzkurven beschrieben. Bei der einen steckt ein kleines Calorimetergefäß aus Zinn so in einer elektrisch geheizten Metallhülle, daß eine Luftschicht dazwischen ist. Das ganze befindet sich in einem Dewar-Gefäß. Beim andern wird ein Kupferblock mit 6 Bohrungen versehen. Fünf davon tragen Silbergefäße mit Thermoelementen, deren zweite Lötstellen sich in der sechsten Bohrung befinden. Der Block, der ebenfalls in einem Dewar-Gefäß steht, wird durch eine Drahtwicklung elektrisch geheizt. In vier Silbergefäßen befindet sich die Probesubstanz, im fünften eine genügend reine Substanzprobe. Aus dem Verlauf der Schmelzkurven kann dann auf die Menge an Verunreinigungen geschlossen werden.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 15—22 (1957). Chem. Res. Lab., Teddington, Middlesex (England). G. Denk

Verwendung von Thiosalzen in der Analyse. *Zur Abtrennung des Rheniums und Antimons von Quecksilber* geht man nach G. B. S. Salaria[1] wie bei der Abtrennung des Arsens, Molybdäns und Tellurs vom Quecksilber[2] von den mit Natriumsulfid hergestellten Thiosalzlösungen des Quecksilbers und des entsprechenden Metalles aus und zersetzt in einem aliquoten Teil das Quecksilberthiosalz bei niedriger Temperatur mit Ammoniumacetat zu HgS, in einem anderen aliquoten Teil der Lösung zersetzt man beide Thiosalze mit Salzsäure zu den Sulfiden. Bei Rhenium müssen außer 12 n Salzsäure 10—15 g Ammoniumsulfat zugesetzt werden, um die vollständige Fällung als Rheniumheptasulfid zu erreichen. Bei Antimon fällt man das HgS allein durch Erhitzen der Thiosalzlösung mit 12 n Salzsäure, den Niederschlag wäscht man zunächst mit 6 n Salzsäure und dann mit Wasser. HgS und Sb_2S_5 werden beim Erhitzen der Thiosalzlösung mit 2 n Salzsäure zusammen gefällt. Platin, Gold, Selen und Zinn lassen sich nach dieser Methode nicht vom Quecksilber abtrennen.

Platin, Gold, Selen, Arsen, Rhenium und Molybdän lassen sich von Blei nach G. B. S. Salaria[3] ebenfalls mit Hilfe der Thiosalz-Zersetzungsmethode abtrennen. Platin wird von Blei durch Erhitzen der Thiosalzlösung in 6 n salzsaurer Lösung als Sulfid abgetrennt. Im Filtrat kann man das Blei nach Neutralisation, Natriumsulfidzugabe und Versetzen mit 6 n Essigsäure durch Erhitzen als Sulfid fällen. Gold läßt sich nach der gleichen Methode abtrennen. Zur Selen-Blei-Trennung löst man das Bleiselenid in der benötigten Menge 8 n Natronlauge und verfährt wie bei der Platinabtrennung weiter. Arsen läßt sich wie Platin abtrennen. Man kann aber auch mit 10—15 g Ammoniumacetat in der Kälte zersetzen und so nur Bleisulfid ausfällen. In jedem Falle muß das Bleiarsenat zunächst in 8 n Natronlauge gelöst werden. Rhenium und Molybdän werden wie bei Arsen abgetrennt. Tellur, Antimon und Zinn können nicht nach dieser Methode abgetrennt werden.

Eine weitere Mitteilung von G. B. S. Salaria[4] betrifft die Bestimmungen von Antimon(V), Platin und Blei. — *Antimon(V)* läßt sich bestimmen, indem man es mit Hilfe eines großen Überschusses an 2 n Natriumsulfidlösung in das lösliche Thiosalz überführt, dieses mit einem ebenfalls großen Überschuß an 2 n Salzsäure zum Antimonpentasulfid zersetzt, das Sb_2S_5 abfiltriert, mit Wasser, Alkohol sowie Äther wäscht, trocknet und wägt. Die Reduktion vor der Antimonbestimmung kann also fortgelassen werden. — Bei der *Platinbestimmung*[5] nach der Thiosalz-Zersetzungsmethode kann die Essigsäure durch 12 n Salzsäure ersetzt werden. Man muß hierbei Ammoniumacetat zusetzen, bei 105° C trocknen und kann als $PtS_2 \cdot 3\,H_2O$ wägen. — Die *Bleibestimmung*[6] gelingt, wenn man zur Probelösung einen Überschuß an Natronlauge und Natrium- oder Ammoniumsulfidlösung

und anschließend 10—15 g Ammoniumacetat zusetzt. Bei Zusatz der Natriumsulfidlösung zu sauren Bleisalzlösungen erhält man zu hohe Werte.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 390—391 (1957). Univ. Allahabad (Indien). — [2] Salaria, G. B. S.: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **16**, 3 (1957); vgl. diese Z. **157**, 448 (1957). — [3] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 392—394 (1957). — [4] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 395—397 (1957). — [5] Taimni, I. K., u. G. B. S. Salaria: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 329 (1954); vgl. diese Z. **147**, 145 (1955). — [6] Taimni, I. K., u. G. B. S. Salaria: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 54 (1954); vgl. diese Z. **145**, 34 (1955). Klaus Brodersen

Bromatometrische Messungen. In einer vorläufigen Mitteilung geben L. Szekeres, E. Sugár und E. F. Papp[1] bekannt, daß die *bromatometrische Bestimmung von Arsen(III) und Antimon(III) mit Jodstärke als reversiblem Indicator* bei entsprechender Säurekonzentration gut durchgeführt werden kann. Die Lösung wird mit 1 Tropfen alkalischer Jodlösung und 2—3 Tropfen Stärkelösung versetzt und die Salzsäurekonzentration auf ungefähr 3—7% eingestellt. Im Endpunkt verschwindet die blaue Farbe infolge Bildung von Jodbromid. Einzelheiten über diese Verfahren sind bereits veröffentlicht[2].

[1] Magyar Kémnai Folyoírat **63**, 264 (1957) [Ungarisch]. (Mit franz. Zus.fass.) Agrarwiss. Univ., Budapest. — [2] Szekeres, L., E. Sugár und É. Pap: diese Z. **159**, 418 (1958). I. Plank

Grundlagen der photometrischen Jodometrie. Jodometrische Bestimmungsverfahren lassen sich nach C. Herbo und J. Sigalla[1] auch in sehr verdünnten Lösungen anwenden, wenn man als Meßgröße die im violetten Spektralbereich gelegene, starke Absorption des J_3^--Ions und ihre Änderungen im Verlauf der chemischen Bestimmungsreaktionen photometrisch verfolgt. Voraussetzung ist, daß praktisch das gesamte analytische Jod entsprechend nachstehendem Gleichgewicht

$$J_3^- \rightleftharpoons J_2 + J^- \; [K = (1{,}4 \pm 0{,}1) \cdot 10^{-3}]$$

als J_3^--Ion vorliegt. Die Gleichgewichte $J_2 + Br^- \rightleftharpoons J_2Br^-$ [$K = 15 \pm 2$]; $J_2 + Cl^- \rightleftharpoons J_2Cl^-$ [$K = 1{,}5 \pm 0{,}2$]; $J_2 + H_2O \rightleftharpoons HJO + J^- + H^+$ [$K = (4{,}5 \pm 1) \cdot 10^{-13}$] dürfen keine merkliche Rolle spielen; auch dürfen keine merklichen Mengen von Jodid durch Luftsauerstoff zu freiem Jod oxydiert werden. Die Verff. haben die Konstanten K der obigen Gleichgewichte neu bestimmt (die Werte sind oben eingetragen) und die Spektren von J_2, J_3^-, J_2Cl^- und J_2Br^- hinsichtlich der Lage und Höhe der Absorptionsbanden und der isosbestischen Punkte neu vermessen (Beckman-Modell B, 1 cm-Küvetten, 25,0 ± 0,1° C): J_3^-: $\lambda_{max} = 350\,m\mu$; $\varepsilon = 2{,}51 \cdot 10^4$ [$l \cdot Mol^{-1} \cdot cm^{-1}$]; J_2: $\lambda_{max} = 460\,m\mu$; $\varepsilon = 6{,}9 \cdot 10^2$ [$l \cdot Mol^{-1} \cdot cm^{-1}$]. Isosbestische Punkte: ($J_2 + J_3^-$): 465 mμ; ($J_2 + J_2Br^-$) : 460 mμ; ($J_2 + J_2Cl^-$) : 470 mμ; ($J_3^- + J_2Cl^-$) : 465 mμ. — Die Oxydation von Jodid durch Luftsauerstoff verläuft unter Lichtzutritt autokatalytisch; sie wird durch Kupferionen katalysiert, ebenso durch Nitritionen. Für die Oxydation in sauerstoffgesättigter Lösung (25° C) unter Ausschluß von Licht und Katalysatoren finden die Verff. folgendes Geschwindigkeitsgesetz: $d[J_3^-]/dt = 2{,}0 \cdot 10^{-6} \cdot [J^-]\,[H^+]$. Die Konstante ist von der Ionenstärke praktisch unabhängig. — Aus den angegebenen Konstanten ist zu folgern, daß die eingangs gestellten Bedingungen für die Anwendbarkeit der photometrischen Jodometrie mit der Erfüllung nachstehender Ungleichungen gegeben sind:

$$[H^+]\,[J^-]^2 \geqslant 1{,}4 \cdot 10^{-1}\,(4{,}5 \cdot 10^{-13} + [H^+]\,[J^-])$$
$$[J^-] \geqslant 2{,}1\;[Br^-]$$
$$[J^-] \geqslant 0{,}21\;[Cl^-].$$

Bei zu hohem p_H-Wert kann Disproportionierung des Jods zu Jodat und Jodid eintreten. — Die Menge des durch Autoxydation gebildeten Jods darf überdies den absoluten Analysenfehler, der hier mit 10^{-7} Mol/l angegeben ist, nicht übersteigen.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 199—207 (1957). Freie Univ., Brüssel.
H. Hartkamp

Über Reaktionsgeschwindigkeiten bei der analytischen Bestimmung einiger anorganischer Peroxyde und Superoxyde berichten S. H. Cohen und J. L. Margrave[1]. Verff. haben die von P. George[2] angegebene Methode zur Bestimmung von Superoxyden in Gemischen mit Peroxyden kritisch überprüft und festgestellt, daß eine quantitative Auswertung dieser Methode nicht immer möglich ist. Die Untersuchungen erstrecken sich auf die *Peroxyde von Lithium, Natrium, Strontium und Barium* sowie die *Superoxyde von Natrium und Kalium*. Jeweils 0,1—0,5 g der genannten Verbindungen werden mit Wasser gemischt und die Reaktionsgeschwindigkeiten auf Grund der Sauerstoffentwicklung beobachtet. Dabei sind die Angaben von P. George[2] im wesentlichen bestätigt worden. Die Peroxyde von Lithium und Natrium jedoch reagieren ähnlich wie Superoxyde (nach Reaktion mit Wasser ist sofortige Sauerstoffentwicklung zu beobachten), was auf teilweise Zersetzung des Wasserstoffperoxydes zurückzuführen ist. In diesem Fall kann keine quantitative Auswertung durchgeführt werden.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1462—1463 (1957). Univ. Madison, Wis. (USA). — [2] Discuss. Faraday Soc. **2**, 196 (1947); J. chem. Soc. (London) **70**, 2367 (1955).
K. Machner

IV. Spezielle analytische Methoden

3. Analysenmethoden auf dem Gebiete der Pharmazie

Literatur. *Organisation Mondiale de la Santé: Pharmacopoea Internationalis.* Editio prima. Volumen II. XX, 363 Seiten. Organisation Mondiale de la Santé, Genève 1955.

Der 2. Band, der wiederum eine Gemeinschaftsarbeit zahlreicher international anerkannter Wissenschaftler mit Spezialerfahrungen auf den von ihnen behandelten Gebieten darstellt, entspricht in seinem Aufbau dem bereits früher gewürdigten 1. Band[1]. Auch im 2. Band werden zahlreiche Arzneimittel in alphabetischer Anordnung nach ihren Eigenschaften, Nachweis- und Bestimmungsmethoden besprochen. Insbesondere gehören dazu verschiedene neu synthetisierte Arzneimittel, die in der letzten Zeit in die Therapie eingeführt worden sind. Der Anhang ergänzt die Angaben aus dem 1. Band in bezug auf Reagentien, Nachweis- und Bestimmungsverfahren durch biologische Untersuchungsverfahren für Insulin, das Chlorid von Tucocarin und für verschiedene Antibiotica. Außer einer Tabelle über die gebräuchlichen und maximalen Dosen der Heilmittel bei Erwachsenen ist auch eine Tabelle mit den entsprechenden Angaben bei Kindern vorhanden. Die Pharmacopoea Internationalis erscheint gleichzeitig in englischer und in französischer Sprache. Eine spanische Übersetzung wird vorbereitet.

[1] *World Health Organization:* Pharmacopoea Internalis, Vol. I., vgl. diese Z. **139**, 67 (1953).

F. Reimers: *The Basic Principles for Pharmacopoeial Tests (Contributions from the Danish Pharmacopoeia Commission, Vol. III).* 113 Seiten. Verlage Ejnar Munksgaard, Kopenhagen, Heinemann Medical Books Ltd., London 1956. Preis 16,00 Dän.kr.

Eine Pharmacopöe ist notwendigerweise ein Gemeinschaftswerk, an dem zahlreiche Mitarbeiter beteiligt sind. Um trotzdem ein in allen seinen Teilen einheitliches Produkt zu erhalten, gibt der Verf. in der vorliegenden Monographie eine Reihe von grundlegenden Richtlinien bekannt, die sich in der dänischen Kommission bewährt haben und die auch anderen, vor die gleiche Aufgabe gestellten Institutionen von Nutzen sein dürften. An Hand von Beispielen werden besprochen: die Reaktionen zur Identifizierung anorganischer und organischer Substanzen, die Kontrolle der Reinheit von Substanzen, die Bestimmung physikalischer Konstanten, die quantitative Bestimmung von Arzneimitteln, die Mikroanalyse usw. In besonderen Kapiteln werden Richtlinien für die Anordnung der die einzelnen Arzneimittel betreffenden Abschnitte gegeben, und allgemeine Gesichtspunkte in bezug auf die Prüfung der pharmazeutischen Zubereitungen erörtert. Das letzte Kapitel behandelt die Revision der Pharmacopöe. A. KURTENACKER

F. GSTIRNER: *Prüfung und Verarbeitung von Arzneidrogen.* In zwei Bänden. Erster Band: Chemische Prüfung. XI, 377 Seiten mit 41 Abbildungen. — Zweiter Band: Verarbeitung. V, 249 Seiten mit 16 Abbildungen. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955. Preis geb. 1. Bd. 36,— DM, 2. Bd. 24,— DM.

In den letzten 20 Jahren sind für viele Wirkstoffe weitgehend spezifische Verfahren entwickelt worden, die sich zur Wertbestimmung in Drogen eignen. Der Verf. bringt im 1. Band des vorliegenden Werkes eine Auswahl dieser meist chemischen, in wenigen Fällen auch einfachen biologischen Methoden, die, wo dies zweckmäßig erscheint, durch bewährte ältere Methoden ergänzt werden. Außer den 85 besprochenen Arzneidrogen selbst sind auch 21 ätherische Öle berücksichtigt, die aus Drogen durch Destillation isoliert werden. Drogen und ätherische Öle sind in dem Buch in alphabetischer Reihenfolge angeordnet. Vor der Erörterung der spezifischen Bestimmungsmethoden werden allgemeine Verfahren beschrieben, die ganze Wirkstoffgruppen erfassen (ätherische Öle, Bitterstoffe, Gerbstoffe, Saponine, Schleimstoffe) oder die die Bestimmung des Mineralstoffgehaltes, der Feuchtigkeit oder Quellfähigkeit bezwecken. — Der 2. Band des Werkes befaßt sich mit der Verarbeitung der Arzneidrogen zu hochwertigen Drogenauszügen (aromatischen Wässern, Dekokten, Infusen, Extrakten, Sirupen, stabilisierten Arzneipflanzenpräparaten, Tinkturen). Es werden zunächst wieder allgemeine Verfahren beschrieben, denen sich besondere Methoden zur Verarbeitung der einzelnen (wieder alphabetisch angeordneten) Drogen anschließen. Die Analysenmethoden zur Wertbestimmung der Auszüge decken sich meist mit den im 1. Band geschildertem Verfahren, die Vorbereitungen der Proben zur Analyse sind ausführlich beschrieben. Das Werk enthält viele Hinweise auf die Originalliteratur, im 2. Band auch ein Sachregister, das in einer etwa folgenden Neuauflage auf beide Bände ausgedehnt werden sollte. Mit seiner Fülle von genau beschriebenen Methoden bildet das Werk von GSTIRNER einen wertvollen Ratgeber für jeden, der mit der Prüfung und Verarbeitung von Arzneidrogen zu tun hat. W. GOTTWALD

D. C. GARRATT: *The Quantitative Analysis of Drugs.* 2. Auflage. XV, 670 Seiten. Chapman & Hall Ltd., London 1955. Preis 70 sh.

Das Werk enthält ausgewählte Analysenvorschriften für die quantitative Bestimmung zahlreicher Stoffe, die als Arzneimittel in Betracht kommen, sowie für die daraus hergestellten pharmazeutischen Zubereitungen. In der 2. Auflage sind unter anderen neu berücksichtigt einige Vitamine, Penicillin und andere Antibiotica, Sulfonamide, Steroide usw. Die Stoffe sind alphabetisch angeordnet. Öle, Fette, Wachse sowie ätherische Öle sind in besonderen Kapiteln am Schluß des Werkes zusammengefaßt. Für alle aus der Literatur entnommenen Verfahren werden

die Literaturzitate gebracht, die sich zum Teil bis in die letzten Jahre erstrecken. Die Methoden der British Pharmacopoeia und des British Pharmaceutical Codex sind als solche gekennzeichnet. Ein Nachtrag enthält Ergänzungen auf Grund der Neuauflage des Codex (1954).

F. Gildemeister/Fr. Hoffmann: *Die ätherischen Öle.* Vierte, völlig neu bearbeitete Auflage, herausgegeben von W. Treibs. *Allgemeiner Teil A. Band I* von W. Treibs unter Mitarbeit von F. Gietz, F. Hauschild, H. Schmidt u. v. Weber und G. Weichsel. XXIII, 500 Seiten. Akademie-Verlag, Berlin 1956. Preis brosch. 33,50 DM.

Seit dem Erscheinen der 3. Auflage[1] des bekannten Werkes von Gildemeister und Hoffmann über die ätherischen Öle in den Jahren 1928—31 haben sich unsere Kenntnisse über diese Stoffklasse so sehr erweitert, daß die Neuauflage des Standardwerkes mit der früheren Ausgabe nur noch wenig gemein hat. Die 4. Auflage soll 7 Bände umfassen (gegenüber 3 Bänden der 3. Auflage); sie ist in 2 Teile gegliedert. Der aus 3 Bänden bestehende Teil A enthält die allgemeinen Grundlagen, die analytischen Methoden und die Beschreibung der verschiedenen chemischen Inhaltsstoffe, Teil B soll in 4 Bänden die einzelnen Öle behandeln. Zunächst liegt der 1. Band (Teil A) vor. In ihm sind nach einer geschichtlichen Einleitung und Angaben über die weltwirtschaftliche Bedeutung der ätherischen Öle umfassende Kapitel über die Verwendung, die Biochemie, Konstitution und Systematik der Inhaltsstoffe sowie über die Gewinnung der ätherischen Öle vorhanden. Den Abschluß des Bandes bilden Angaben über besondere Handelsformen ätherischer Öle und Hinweise auf die Bedeutung synthetischer Geruchsträger und künstlicher ätherischer Öle. Die Darstellung ist ausgezeichnet und erschöpfend, die zahlreichen Hinweise in den meisten Abschnitten zeigen, daß die Literatur bis in die jüngste Zeit berücksichtigt worden ist. An der Abfassung des groß angelegten Werkes ist die Firma Schimmel u. Co., A.G., Miltitz, die die früheren Auflagen allein herausgegeben hat, noch immer maßgebend beteiligt.

[1] Vgl. diese Z. **76**, 295 (1929); **80**, 88 (1930); **85**, 237 (1931). A. Kurtenacker

Zur Technik der wasserfreien maßanalytischen Bestimmung pharmazeutisch verwendeter schwacher Basen und Säuren veröffentlichen W. Keller und F. Weiss[1] praktische Hinweise. Als günstigstes Lösungsmittel für schwache Basen bewährt sich wasserfreie Essigsäure, die über Chromtrioxyd destilliert und dann entsprechend ihrem Wassergehalt mehrere Stunden mit Acetanhydrid unter Rückfluß erhitzt, sodann fraktioniert destilliert wird. Sie darf nicht mehr als 0,1% Wasser enthalten. Die als Titrierlösung verwendete 0,1 n Perchlorsäurelösung stellt man durch tropfenweisen Zusatz von 10 ml 70%iger Perchlorsäure zu 50 ml Acetanhydrid unter Kühlung und Auffüllen mit Eisessig auf 1 l her. Die Einstellung erfolgt gegen Kaliumhydrogenphthalat. Der Endpunkt der Titration läßt sich am besten mittels einer Glaselektrode bestimmen, doch eignen sich als Indicatoren für visuelle Titrationen Lösungen von Kristallviolett, Scharlachrot, Malachitgrün oder α-Naphtholbenzein in Eisessig. Wegen des hohen Ausdehnungskoeffizienten der Essigsäure von 0,0011 je ° C muß bei der Titration die Temperatur berücksichtigt werden bzw. mit einem Korrekturfaktor (0,11%/° C) gearbeitet werden. — *Beispiel einer nichtwäßrigen Titration.* Man löst 200—300 mg Ephedrinhydrochlorid unter Erwärmen in 60—70 ml wasserfreier Essigsäure, setzt 10 ml 6%iger Quecksilber(II)-acetatlösung in Eisessig zur Bindung der Cl-Ionen zu und titriert mit Kristallviolett als Indicator mit 0,1 n Perchlorsäure auf Blau. — Für die Titration *schwacher Säuren,* wie von *Sulfonamiden* oder *Barbituraten,* verwendet man als Lösungsmittel

besonders gereinigtes Dimethylformamid, Pyridin oder Benzol-Methanolgemisch. Unter Zusatz von Thymolblaulösung als Indicator wird mit 0,1 n Natrium- bzw. Lithiummethylatlösung, die gegen Benzoesäure eingestellt ist, titriert. — Die Arbeit enthält zahlreiche Einzelheiten und Tabellen mit Titrationswerten.

[1] Pharmazie **12**, 462—471 (1957). Humboldt-Univ. Berlin. K. Söllner

Über den Nachweis von Schwermetallionen in Arzneistoffen mittels des Natriumcarbat (Na-C)-Reagenses (Natriumdiäthyldithiocarbaminat) berichtet R. Kress[1]. Man versetzt die zu prüfende Arzneimittellösung mit 3 Tropfen Salpetersäure und daraufhin mit 3 Tropfen Na-C-Reagens (2 g Na-C in 25 ml Methanol + 75 ml Wasser). Das Auftreten eines Niederschlages beweist die Anwesenheit eines Schwermetallions. Der Niederschlag ist weiß bei Sb, As^{III}, Pb, Cd, Hg, Zn, schmutzigweiß bei Sn, As^{V}, dunkelbraun bei Fe^{II}, Cu, braunschwarz bei Fe^{III}, grün bei Cr, grüngelb bei Ni, gelb bei Bi, gelblich bei Ag, wechselnd weißgrau bis schmutzigviolett bei Mn. Beim Erhitzen oder längerem Stehen der Reaktionsansätze lösen sich die Metallkomplexe unter Bildung von Schwefelkohlenstoff. Das Original enthält in Anlehnung an DAB 6 die Arbeitsvorschriften für die dort angeführten, auf Schwermetall zu prüfenden Arzneistoffe.

[1] Dtsch. Apotheker-Ztg. **97**, 793—796 (1957). K. Söllner

Über die Perjodatreaktion in der pharmazeutischen Analyse berichten H. Auterhoff und V. Lohmann[1]. L. A. J. Malaprade[2] hat festgestellt, daß die Einwirkung von Perjodat auf Polyalkohole nach folgender Reaktion verläuft: $HOH_2C \cdot (CHOH)_n \cdot CH_2OH + (n+1)\ HJO_4 \rightarrow n\ HCOOH + 2\ HCHO + (n+1)\ HJO_3 + H_2O$. Setzt man substituierte Polyalkohole bzw. solche mit veresterten oder verätherten OH-Gruppen ein, so bleibt die C-C-Bindung erhalten. Zur quantitativen Bestimmung von Substanzen der genannten Verbindungsklassen kann einerseits der Verbrauch an Perjodat (I) ermittelt, andrerseits die Menge der gebildeten Ameisensäure (II) oder des entstandenen Formaldehyds (III) bestimmt werden. — *Ausführung. Ia.* Man löst 0,05—0,1 g Analysenmaterial mit 0,5—1,2 g (genau gewogen) Natriumperjodat in 50 ml Wasser, setzt zur Lösung 10 ml 2 n Schwefelsäure und füllt mit Wasser auf 100 ml auf. Nach 2 Std versetzt man 10 ml des Ansatzes mit 0,3—0,6 g Kaliumjodid und 10 ml 2 n Schwefelsäure und titriert das ausgeschiedene Jod mit 0,1 n Natriumthiosulfatlösung bzw. bestimmt es bei kleinen Mengen colorimetrisch. — *Ib.* Man verfährt wie bei Ia ohne jedoch 2 n Schwefelsäure zuzusetzen. Nach 2 Std mischt man 10 ml des Reaktionsgemisches mit 10 ml 0,1 n Arsenitlösung, 1 ml 10%iger Kaliumjodidlösung und 1,5 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und titriert nach 15 min das überschüssige Arsenit mit Jodlösung zurück. — *II.* Die Titration der Ameisensäure mit Lauge gibt ungenaue Werte. — *III.* 0,02—0,06 g Substanz löst man in einigen ml Wasser, versetzt mit 0,2—0,6 g (genau gewogen) Natriumperjodat, 50 ml Wasser und 10 ml 2 n Schwefelsäure, füllt auf 100 ml auf und läßt 2 Std lang stehen. Dann versetzt man in einer Normalschliffapparatur 50 ml des Ansatzes mit 10 ml 2 n Schwefelsäure und destilliert bis auf einen Rest von 5 ml ab. Nun füllt man das Destillat mit Wasser auf 100 ml auf. Dann versetzt man eine Mischung von 1 ml Chromotropsäurelösung (siehe unten) und 8 ml 81%iger Schwefelsäure mit 0,9—0,6 ml Wasser, erwärmt auf 80° C, setzt 0,1—0,4 ml Destillat (die Menge Wasser + Destillat soll 1 ml betragen) zu, mischt und läßt 20 min lang bei 75—80° C stehen. Nach dem Kühlen mit Leitungswasser läßt man 10 min lang stehen und bestimmt dann die Farbintensität in einem Colorimeter. Die Ermittelung des HCHO-Wertes erfolgt an einer Eichkurve, die auf analoge Weise aus Formalinlösungen mit 60 μg HCHO/ml hergestellt wird. —

Chromotropsäurelösung. Man löst frisch 0,3 g 1,8-Dioxynaphthalin-3,6-disulfosaures Natrium in 20 ml Wasser.

[1] Dtsch. Apotheker-Ztg. **97**, 904—905 (1957). Univ.Tübingen. — [2] Bull. Soc. chim. **43**, 683 (1928); vgl. diese Z. **115**, 357 (1938/39). K. Söllner

Über die Analytik dermatologischer und kosmetischer Salbenzubereitungen berichten R. Springer und H. Weigand[1]. Verff. wenden das bereits in früheren Arbeiten[2,3,4] beschriebene Verfahren zur absorptiven Trennung von Salbenbestandteilen auch auf die für das DAB 7 vorgeschlagenen neuen Salbengrundstoffe und -zubereitungen an. Auch bei diesen Substanzen erweist sich Trichloräthylen als brauchbarstes Lösungsmittel, da Aluminiumoxyd diesem Stoff gegenüber offensichtlich besonders günstige Sorptionseigenschaften besitzt. Ebenso ist Aluminiumoxyd wieder das am besten geeignete Sorptionsmittel, das insbesondere wegen seiner selektiven Sorptionseigenschaften für die Trennung von Salbenbestandteilen herangezogen werden kann, wie es bereits in anderen Ländern für den gleichen Zweck weitgehend verwendet wird. Die Arbeit enthält eine umfangreiche Tabelle mit den für den genannten Zweck wichtigen physikalischen Daten der für die Einführung in das DAB 7 vorgeschlagenen Salbengrundlagen.

[1] Dtsch. Apotheker-Ztg. **97**, 896—898 (1957). Univ. München. — [2] Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **287/59**, 204 (1954). — [3] Springer, R., u. R. Herzinger: Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **289/61**, 418 (1956); vgl. diese Z. **156**, 214 (1957). — [4] Springer, R.: Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **290/62**, 41 (1957); vgl. diese Z. **159**, 373 (1957). K. Söllner

Zur Bestimmung des Äthanolgehaltes von Tinkturen und Spirituspräparaten mit Hilfe der kritischen Mischungstemperatur wird von R. Fischer und H. Auer[1] ein einfaches Verfahren angegeben, das sich in etwa 15 min ohne besonderen Aufwand durchführen läßt. — *Ausführung.* 2—3 ml Tinktur werden in einem kleinen Proberöhrchen mit etwa 0,025 g Aktivkohle kräftig geschüttelt. Anschließend wird durch ein Trichterröhrchen mit kleinem Asbestpfropfen in ein Substanzröhrchen filtriert. Dabei ist darauf zu achten, daß keine Verdunstungsverluste auftreten. Man füllt einen Teil des Filtrats mit einer geeigneten Testflüssigkeit in eine Capillare von 0,6—0,7 mm Durchmesser (zuerst wird der Alkohol, danach die Testflüssigkeit aufgesaugt), schmelzt zu, zentrifugiert, so daß sich die schwerere Testflüssigkeit unten bzw. außen befindet, und bestimmt auf einem Kofler-Mikroskop-Heiztisch die kritische Mischungstemperatur. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Es ist jedoch nicht möglich, den ganzen Konzentrationsbereich mit einer einzigen Testflüssigkeit zu umspannen. Für Tinkturen, die mit 70%igem Alkohol angesetzt worden sind, wählt man Diäthylphthalat oder β,β-Dichlordiäthyläther (Chlorex) als Testflüssigkeiten (Diäthylphthalat ist bei einem Alkoholgehalt zwischen 58 und 70%, Chlorex für 66—75%igen Alkohol verwendbar). Für Tinkturen mit 90%igem Alkohol nimmt man Dioctylphthalat, das bei einem Alkoholgehalt zwischen 83 und 95% verwendet werden kann. Tinkturen mit niedrigem Äthanolgehalt können mit Acrylnitril (zwischen 15 und 41,5%) oder mit n-Butanol (zwischen 0 und 27,5%) geprüft werden. Die Analyse von Spirituspräparaten und destillierten Schnäpsen, wie Slibowitz usw. sowie extraktarmen Präparaten wie Rum und Cognac erfolgt in derselben Weise, sofern der Gehalt an ätherischem Öl oder Aromastoff etwa um 1% liegt. Formalinspiritus kann nicht geprüft werden, da Formaldehyd eine stärkere Depression der kritischen Mischungstemperatur hervorruft. Nach den mitgeteilten Analysenzahlen ist die Genauigkeit der Methode zufriedenstellend. Spirituspräparate mit größerem Gehalt an ätherischem Öl können unter Heranziehen des Brechungs-

indexes geprüft werden, wie an *Spiritus Menthae* und *Spiritus camphoratus* gezeigt wird. Auch *Oleum camphoratum* kann mittels der kritischen Mischungstemperatur bestimmt werden.

[1] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **96**, 497—503 (1957). Univ. Graz (Österreich). K. Machner

Zur Wertbestimmung von Calciumdinatriumäthylendiamintetraacetat ($CaNa_2$-ÄDTA), das als Antidotum bei Vergiftungen mit Blei, Chrom und gewissen radioaktiven Elementen verwendet wird (*Mosatil-Bayer, Calcium-Hausmann* usw.), haben F. Buben, J. Körbl und R. Přibil[1] Analysenmethoden ausgearbeitet. Die Bestimmung des Wassergehaltes (22—25%) erfolgt entweder nach dem K. Fischer-Verfahren oder mit Hilfe der Thermogravimetrie. Die letzte zeigt, daß vollständige Entwässerung bei 200° C erreicht wird. Die wasserfreie Verbindung ist bis 340° C beständig. *Zur Bestimmung von freiem Calcium bzw. freiem ÄDTA,* ferner von *Gesamt-Calcium* und *Gesamt-ÄDTA* werden Titrationen unter Verwendung des Indicators *Methylthymolblau*[2] empfohlen. — *Ausführung.* Man löst eine 200 bis 300 mg $CaNa_2$-ÄDTA entsprechende Menge der Probe in 100 ml Wasser und gibt 2—3 Tr. 0,1%iger Indicatorlösung (frisch bereitet) sowie 5 ml 0,1 n Natronlauge zu. Tritt Blaufärbung ein (freies Calcium), titriert man mit 0,01 m ÄDTA-Lösung auf rauchgraue Farbe, ist diese Farbe von vornherein vorhanden (freies ÄDTA), erfolgt die Titration mit 0,01 m $CaCl_2$-Lösung zur Blaufärbung. Die austitrierte Lösung versetzt man mit 0,8 ml 1 n Salpetersäure und (zur p_H-Einstellung) mit 0,25 g Hexamethylentetramin. Die nun citronengelbe Lösung wird mit 0,05 m $Pb(NO_3)_2$-Lösung zur Blaufärbung titriert (Gesamt-ÄDTA). Nachdem man mit 1 Tr. 0,05 m ÄDTA-Lösung wieder Gelbfärbung erzeugt hat, setzt man 10 ml 25%ige Ammoniaklösung zu und titriert die neuerlich blau gewordene Lösung mit 0,05 m ÄDTA-Lösung bis zur rauchgrauen Farbe (Gesamt-Ca). Das Verfahren eignet sich für *Injektionen, Tabletten und Salben.*

[1] Chem. Listy **51**, 1307—1311 (1957) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. Pharm. Biochem. und Akad. Wiss. Prag. — [2] Körbl, J., und R. Přibil: Chem. Listy **51**, 1061, 1304 (1957); vgl. diese Z. **160**, 374 (1958). A. Kurtenacker

Mit der Analyse von Zinkstearat nach U.S.P. 15 befaßt sich J. S. Faber[1]. Bei dieser Methode wird lediglich der Gehalt an Fettsäure titriert und daraus ZnO berechnet. Das Verfahren liefert falsche Werte, wenn noch andere Stearate, wie Natriumstearat, in dem Produkt enthalten sind. Verf. empfiehlt daher, zusätzlich noch eine komplexometrische Zinktitration auszuführen und gibt dafür drei Arbeitsvorschriften. Die Methode ist auch auf Magnesiumstearat anwendbar. — *Ausführung.* 1. Die Lösung von 0,5 g der Probe in einer Mischung aus 50 ml Äthanol + 1 ml Salzsäure versetzt man mit 25 ml einer 0,05 m ÄDTA-Lösung und läßt dann 10%ige Ammoniaklösung zutropfen, bis ein Niederschlag ausfällt (p_H etwa 10). Dann fügt man 5 ml einer Pufferlösung (70 g NH_4Cl + 460 ml 25%iges Ammoniak im l; p_H 10) hinzu, erwärmt auf 50° C und titriert mit einer 0,05 m Zinksulfatlösung gegen Eriochromschwarz T bis zum Umschlag von Blau nach Rotviolett. — 2. 1 g der Probe verascht man zunächst vorsichtig, nimmt den Rückstand mit 2 ml verd. Salzsäure und etwas Wasser auf, kocht, fügt 50 ml 0,05 m ÄDTA-Lösung, 4—8 ml 1 n Natronlauge und 5 ml der Pufferlösung hinzu und titriert mit Zinksulfatlösung wieder gegen Eriochromschwarz T. — 3. Zunächst analysiert man nach der U.S.P.-Methode, indem man 1 g der Probe mit 50 ml 0,1 n Schwefelsäure kocht, filtriert und das Filtrat mit 0,1 n Natronlauge zurücktitriert. Dann versetzt man die Lösung mit 5 ml der Pufferlösung, erwärmt auf 40° C und titriert mit 0,05 m ÄDTA-Lösung ebenfalls wieder gegen Eriochromschwarz T. — Die erste Methode ist besser

als die zweite, doch muß man sich vor plötzlichem Stoßen beim Kochen hüten. Die dritte Methode ist für pharmazeutische Produkte die am besten geeignete.

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **46**, 512—514 (1957). Univ. Groningen (Niederlande). G. Denk

Mannithexanitrat (MHN) in Tabletten in Anwesenheit von Phenobarbital kann nach M. A. McEniry[1] maßanalytisch bestimmt werden, indem die Salpetersäure des MHN zu Ammoniak reduziert wird. — *Ausführung.* In einen Destillierkolben, der einen verschließbaren Seitenansatz trägt, so daß ohne Unterbrechung der Destillation Flüssigkeit zugegeben werden kann (Skizze im Original), bringt man soviel feingepulvertes Tablettenmaterial, daß sein MHN-Gehalt etwa 6—7 mg beträgt. Dann gibt man 10 ml Alkohol und 10 ml 0,5 n alkoholische Kalilauge zu und destilliert langsam in eine Vorlage mit Seitenansatz, die 5 ml Wasser und einen Tropfen Methylrotlösung enthält und neutralisiert während der Destillation deren Inhalt tropfenweise mit 0,01 n Schwefelsäure, bis kein alkalisch reagierendes Destillat mehr übergeht. Dann unterbricht man die Destillation, entleert die Vorlage, beschickt sie erneut mit 5 ml Wasser und einem Tropfen Methylrotlösung, bringt in den abgekühlten Destillierkolben 5—10 ml Alkohol und 50 mg Dewarda-Metall und setzt die Destillation fort, bis der Kolbeninhalt nahezu trocken ist. Unter Neutralisation des Inhaltes der Vorlage mit 0,01 n Schwefelsäure setzt man die Destillation fort, wobei man durch den Seitenansatz des Kolbens tropfenweise Alkohol in diesen fließen läßt. Die Bestimmung ist beendet, wenn mit dem Destillat kein Ammoniak mehr in die Vorlage übergeht.

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **40**, 929—932 (1957). Food a. Drug Admin., St. Louis, Mo. (USA). K. Söllner

Eine einfache Methode zur säulenchromatographischen Trennung und quantitativen Bestimmung von Methylmannosiden beschreibt D. F. Mowery jr.[1]. Die Mannoside werden mit Hilfe einer automatisch kontrollierten Cellulosesäule (Abbildung und Beschreibung im Original) unter Verwendung von Butanol-Pyridin-Wasser (10:3:3) als beweglicher Phase getrennt und anschließend im Eluat nach Reaktion mit Anthron colorimetrisch bestimmt. Die Trennung dauert ungefähr 12 Std bei einer Fließgeschwindigkeit von etwa 1 ml/min. Die einzelnen Mannoside treten in der nachstehend genannten Reihenfolge aus der Säule: *α-Furanosid, α-Pyranosid, β-Furanosid, β-Pyranosid und Mannose.* Das Eluat wird in 5 ml-Fraktionen aufgefangen. Jeweils 1 ml der erhaltenen Fraktionen mit nicht mehr als 0,15 mg Mannose oder Methylmannosid wird zur Glykosidbestimmung mit 2 ml einer 0,2%igen Lösung von Anthron in 95%iger Schwefelsäure versetzt. Man mischt gut durch, läßt das Reaktionsgemisch 1 Std stehen und mißt dann die Extinktion der erhaltenen Farbsalzlösung bei 620 mμ. Es wird rechnerisch ausgewertet. Die Beleganalysen zeigen befriedigende Übereinstimmung mit den erwarteten Werten.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1451—1453 (1957). College Ripon, Wisc. (USA).
K. Machner

Über die bromatometrische Bestimmung der Kreislaufmittel Sympatol, Veritol, Vasculat, Suprifen und Dilatol *(I—V, alle E W)* berichten A. Awe und H. Stohlmann[1]. — *Ausführung. A.* Man mischt in einem Jodzahlkolben 10 ml einer 0,02 bis 0,045 g l-tartrat enthaltenden Lösung mit 10 ml 0,1 n Kaliumbromatlösung und 0,5 ml 25%iger Salzsäure, fügt 1 g Kaliumbromid zu und läßt verschlossen unter öfterem Umschwenken 1—1½ min lang stehen. Dann gießt man rasch auf einmal eine Lösung von 0,5 g Kaliumjodid in 10 ml Wasser zu, läßt unter Verschluß

2 min lang stehen und titriert aus einer Feinbürette mit Stärkelösung als Indicator mit 0,1 n Natriumthiosulfatlösung. *B.* Man arbeitet wie bei *A* unter Einsatz von 0,02—0,04 g II-sulfat, fügt aber zur jodometrischen Bestimmung 0,5 g KJ in einer Mischung aus 2 ml Wasser und 10 ml Methanol hinzu und beendet die Zugabe von 0,1 n Natriumthiosulfatlösung, sobald die Lösung nach Verschwinden der kurz vor dem Endpunkt auftretenden Braunfärbung farblos geworden ist. *C.* Man verfährt unter Vorlage von etwa 0,03 g III-sulfat wie bei *A* unter Verwendung von 0,5 g KBr und 1 g Kaliumjodid in einer Mischung von 1 ml Wasser und 9 ml Methanol. *D.* Der zunächst wie bei *A* behandelten Analysenprobe von etwa 0,03 g IV-hydrochlorid fügt man 0,5 g KBr und dann 0,5 g festes Kaliumjodid zu und schüttelt bis zu dessen Lösung um. *E.* Man wägt etwa 0,3 g V-hydrochlorid genau in einen 100 ml-Meßkolben, löst die Substanz durch Erwärmen in 80 ml Wasser und fügt nach dem Erkalten Wasser bis zur Marke zu. Man entnimmt der Lösung 10 ml, arbeitet wie bei *A*, setzt 0,5 g KBr und 10 sec nach dem Auftreten eines gelblich-weißen Niederschlages eine Lösung von 1 g Kaliumjodid in 1 ml Wasser und 19 ml Methanol zu. Erscheint der Niederschlag später als nach 1 min Reaktionszeit, so ist die Bestimmung zu wiederholen. Die Jod-Titration erfolgt ohne Zusatz von Stärkelösung als Indicator. 1 ml 0,1 n Kaliumbromatlösung entsprechen: 0,006056 g I-tartrat; 0,005357 g II-sulfat; 0,006458 g III-sulfat; 0,005442 g IV-hydrochlorid und 0,008397 g V-hydrochlorid.

[1] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **96**, 371—381 (1957). Techn. Hochschule, Braunschweig. K. Söllner

Das analytische Verhalten von Wofacain A (p-Butylamino-salicylsäure-diäthylaminoäthylester-hydrochlorid, WA) beschreibt M. Hädicke[1]. WA ist ein geruchloses, weißes, brennend bitter und anaesthesierend schmeckendes kristallines Pulver, das bei 136° C schmilzt und sich im Verhältnis 1:5 in Wasser, leicht in Äthanol und Äther, schwer in Chloroform löst. In Schwefel- und Salpetersäure ist es farblos löslich. Die 1%ige WA-Lösung gibt bei Zusatz von Quecksilber(II)-chloridlösung eine weiße Fällung, mit 0,1 n Jodlösung einen braunen Niederschlag. Alkali erzeugt eine milchige Abscheidung der freien Base. WA-Lösung entfärbt sofort Kaliumpermanganatlösung und gibt mit Eisen(III)-chloridlösung Violettfärbung. Fällungen entstehen durch Einwirkung folgender Reagentien: 0,5 g Natriumacetat und 1 ml Ammoniumrhodanidlösung (1 + 3) zu 10 ml WA-Lösung: weiße, nach dem Umkristallisieren aus Wasser bei 109°—110° C schmelzende Kriställchen; 5 ml gesättigte Styphninsäurelösung zu 2 ml WA-Lösung: gelbe Trübung, nach mehreren Stunden kristallisierend und bei 126° C schmelzend (Empfindlichkeit 1:40000); gleiche Volumen 1%iger wäßriger Flaviansäurelösung und WA-Lösung: Trübung, nach mehreren Stunden zu kugelförmigen Büscheln kristallisierend, Fp 193°—194° C. Das rosafarbene Reineckat entsteht noch bei einer Verdünnung des WA von 1:400000. Bei Zusatz des gleichen Volumens gesättigter wäßriger Methylorangelösung entsteht sofort eine gelbe Trübung, die nach mehrstündigem Stehen in dünnen Nadeln kristallisiert. Ebenso fallen mit der 2,5fachen Menge gesättigter, 20%iger alkoholischer Pikrolonsäurelösung unter Eiskühlung gelbe, bei 152°—154° C schmelzende Nädelchen aus. Für die quantitative Bestimmung von WA kann die Volhardsche Titration des Hydrochloridanteiles herangezogen werden, wobei 1 ml 0,1 n Silbernitratlösung 34,488 mg WA entspricht. Die argentometrische Adsorptionstitration führt man wie folgt aus: Man löst 0,15—0,25 g WA in 30 ml Wasser, setzt 3 ml Salpetersäure und 4 bis 5 Tropfen 2%iger wäßriger Säureviolett 4 BL-Lösung zu, wobei die Lösung rein blau gefärbt sein muß, andernfalls weitere Salpetersäure tropfenweise zuzusetzen ist. Dann titriert man mit 0,1 n Silbernitratlösung bis zum Umschlag nach Violett.

Der Verf. beschreibt ferner ein bromometrisches, ein fällungsanalytisches (Reineckat) und ein argentometrisches (mit Kalignost) Titrationsverfahren.

[1] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **96**, 396—401 (1957). Inst. Arzneimittelprüf. Jena. K. Söllner

Zur Bestimmung von Äthinyltestosteron in Arzneimitteln (Tabletten) empfiehlt J. Carol[1] eine IR-spektrophotometrische Methode, die von J. J. Kirkland[2] ausgearbeitet worden ist. — *Ausführung.* Die feingepulverte Probe (etwa 20 25 mg Äthinyltestosteron enthaltend) wird in einem Scheidetrichter mit 5—10 ml Wasser versetzt und 3mal mit je 25 ml Chloroform extrahiert. Man filtriert die Chloroformextrakte über Baumwolle in einen kleinen Becher, verdampft im Luftstrom zur Trockne (Dampfbad), kühlt ab und wägt den Rückstand. 10 mg des Rückstandes werden in einem Achatmörser mit genau 1,0000 g Kaliumbromid sorgfältig verrieben. Man überführt genau 200 mg des Gemisches in die bereits früher beschriebene Preßform[2] (die Form kann evakuiert werden und dient zur Herstellung dünner Scheiben mit einem Durchmesser von 12 mm), evakuiert auf unter 1 mm Quecksilbersäule und preßt die Form 5 min mit einem Druck von mindestens 10 t (hydraulische Presse). In gleicher Weise wird unter Verwendung von 10 mg Äthinyloestradiol als Eichsubstanz eine Standardscheibe hergestellt. Man bestimmt die Extinktion der beiden Scheiben im infraroten Spektralbereich bei 9,50 μ. Da das Beersche Gesetz mit ausreichender Genauigkeit befolgt wird, genügt die Verwendung eines einzigen Standards. Beleganalysen zeigen gute Übereinstimmung mit den erwarteten Werten. Das Original zeigt die IR-Absorptionsspektren des Äthinyltestosterons sowie einiger anderer Steroide *(Äthinyltestosteron, Äthinyloestradiol, Oestradiol-17α, Oestradiol-17β, Equilenin, Equilin, Oestron).*

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **40**, 837—841 (1957). Dep. Health, Educat. Welfare, Washington D. C. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **27**, 1537 (1955); vgl. diese Z. **151**, 278 (1956). K. Machner

Ein colorimetrisches Verfahren zur Bestimmung von Digitoxin (I) und Gitoxin (II) in Tabletten beschreibt D. Banes[1]. — *Arbeitsweise.* Man bringt das extrahierte Glykosidgemisch auf die Spitze einer Formamid-Celite-Säule[2] und wäscht mit 280 ml Benzol-Chloroformmischung (3 + 1), wodurch I eluiert wird. Beim Nachwaschen der Säule mit 200 ml Chloroform wird II isoliert. Die Eluate wäscht man mit 100 ml Wasser, schüttelt dieses wieder mit 30 ml Chloroform aus und dampft Eluate und Waschchloroform zur Trockne ein. Ebenso bringt man 5 ml einer I-Standardlösung zur Trockne. Zu jedem der abgekühlten Trockenrückstände gibt man 4 ml Farbreagens (s. unten), löst unter Umschwenken und bestimmt nach 20 min die Lichtabsorption der Lösungen bei 590 mμ. In Abständen von 5 min wiederholt man die Messung der Extinktionswerte, bis deren Maximum erreicht ist. — *Farbreagens.* Man mischt 60 ml Eisessig mit 5 ml konz. Schwefelsäure und 2 ml 5%iger Eisen(III)-chloridlösung und kühlt.

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **40**, 794—796 (1957). Food a. Drug Admin., Washington, D. C. (USA). — [2] Manell, W. A., A. Lavallee, R. A. Carioto u. M. G. Allmark: J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **45**, 98 —101 (1956). K. Söllner

Die jodometrische Bestimmung von Novalgin in 50%iger Injektionslösung von C. P. M. Wirth[1] wird vom Autor[2] dergestalt abgeändert, daß die für die Titration benötigte Menge des Analysenmaterials nicht abgemessen, sondern abgewogen wird. Man wägt etwa 0,5 ml der zu titrierenden Lösung genau, setzt 50 ml Wasser und 3 ml verdünnte Essigsäure zu und führt die Titration nach der Originalmethode[1] durch. Der Gehalt der Lösungen an Novalgin- Monohydrat (N-M) kann

auch aus ihrer Dichte entnommen werden. Diese beträgt, wie an Hand einer Standardkurve ermittelt werden kann, bei einem Gehalt von 45,0% N-M 1,1446; 47,5% 1,1522; 50,0% 1,1598; 52,5% 1,1672 und 55,0% 1,1748 bei 25° C.

[1] Pharmac. Acta Helvetiae **29**, 199 (1954); vgl. diese Z. **145**, 453 (1955). — [2] Wirth, C. P. M.: Pharmac. Acta Helvetiae **32**, 383—384 (1957). K. Söllner

Über die chemische Prüfung der Samen von Lepidium Iberis (var. alb.) berichten B. C. Joshi und J. D. Tewari[1]. Die Prüfung zeigt die Anwesenheit von Schleim, Farbstoffen, eines ätherischen und eines fetten Öles. Bei der Untersuchung des fetten Öles (es besitzt einen senfähnlichen Geruch), das durch erschöpfende Extraktion mit Petroläther (Kp 40—60° C) in einer Ausbeute von 5,52% gewonnen und anschließend nacheinander mit Tierkohle und Fullererde gereinigt worden ist, sind folgende physikalische und chemische Konstanten bestimmt worden: Spez. Gew. 0,9408; Brechungsindex 1,4109; Säuregrad 20,3; Verseifungszahl 182,3; Jodzahl nach Hanuš 115,8 und Unverseifbares 0,74%. Nach dem Verseifen mit alkoholischer Natronlauge ist das erhaltene Fettsäuregemisch (81,5% des gesamten Öles) durch Hilditchs Modifikation des alkoholischen Bleisalzprozesses nach E. Twitchell[2] in feste und flüssige Fettsäuren aufgetrennt worden. Zur quantitativen Prüfung werden die flüssigen und festen Säuren in ihre Methylester umgewandelt und die erhaltenen Ester im Vakuum fraktioniert destilliert. Aus der Jodzahl und dem Unverseifbaren jeder Fraktion kann dann der Prozentgehalt der einzelnen Säuren berechnet werden. Die Bestimmung der flüssigen Säuren kann auch noch durch Bromierung einer gewogenen Menge der Säuren vorgenommen werden.

[1] Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **290**, 215—218 (1957). Univ. Allahabad (Indien). — [2] J. Ind. Engng. Chem. **13**, 806 (1921). K. Machner

Die physikalischen und optischen Eigenschaften der Tuberculostatica Isonicotinsäurehydrazid (INH), INH-dilituat, 1-Isonicotinyl-2-benzylidenhydrazid, 1-Isonicotinyl-2-isopropylhydrazid, Tibion (Conteben) und Tibion-p-nitrophenylhydrazon geben J. W. Shell, Ch. F. Poe und N. F. Witt[1] in tabellarischer Zusammenstellung an. Außerdem enthält die Arbeit die Mikrokristallphotos (240fache Vergrößerung) der genannten Substanzen. Die optischen Eigenschaften der Kristalle eignen sich zur Identifizierung der angeführten Stoffe.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1957**, 501—505. College Pharm., Univ. Boulder, Colorado (USA). K. Söllner

Alkaloide. *Zur Methoxylgruppenbestimmung in Alkaloiden* empfiehlt M. Langejan[1] die von A. P. Mathers und M. J. Pro[2] angegebene Methode. Die Methoxylgruppe wird durch Einwirkung von konz. Schwefelsäure zu Methanol umgesetzt, der Alkohol wird abdestilliert und mit Permanganat zu Formaldehyd oxydiert, der nach Reaktion mit Chromotropsäure photometrisch bestimmt werden kann. — *Arbeitsweise.* 0,5 ml Probelösung werden im Kolben (*A*) der Destillationsapparatur (Abb. 1) mit 5 ml konz. Schwefelsäure versetzt und nach Zugabe einiger Platinspäne 5 min unter Rückfluß erhitzt (dazu wird der seitliche Ansatz des Kolbens verschlossen). Man läßt abkühlen, gibt durch den Kühler (*B*) 5 ml Wasser hinzu (der Kühler dient gleichzeitig als Fraktionierkolonne und ist mit Glasperlen bepackt), schließt den Destillationsaufsatz (*C*) an und destilliert unter Einleiten von Stickstoff. Die Vorlage (*D*) wird mit 2 Tropfen Wasser beschickt und in einen Becher mit Eiswasser gestellt. Der Aufsatz wird während der Destillation mit eiswassergetränkter Watte gekühlt. Nach 20 min werden etwa 2 ml Destillat erhalten. Ein aliquoter

Teil (0,5 ml) des Destillats mit nicht mehr als 100 μg Methanol wird in einem 25 ml-Meßkolben mit 10 Tropfen eisgekühlter phosphorsaurer $KMnO_4$-Lösung versetzt (3 g Kaliumpermanganat und 15 ml 85%ige Phosphorsäure werden in Wasser gelöst und auf 100 ml verdünnt). Nach genau 10 min wird das überschüssige Permanganat mit der gerade ausreichenden Menge von fein gepulvertem Natriumhydrogensulfit reduziert. Man fügt 1 ml Chromotropsäurelösung (1 g in 100 ml konz. Schwefelsäure) und unmittelbar danach 8 ml konz. Schwefelsäure hinzu, mischt gut durch, läßt das Reaktionsgemisch genau 10 min bei 75° C stehen, kühlt ab, verdünnt mit Wasser auf 20 ml, kühlt erneut, füllt zur Marke auf, läßt einige Zeit bei 20° C stehen und mißt die Extinktion bei 550 mμ. Ein Blindversuch wird entsprechend durchgeführt. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Bis zu 100 μg Methanol folgt die Kurve dem Beerschen Gesetz. Die Beleganalysen zeigen gute Übereinstimmung mit den erwarteten Werten. Bei der Bestimmung von *Cotarnin*, das unter der Einwirkung von konz. Schwefelsäure Formaldehyd abspaltet (der Aldehyd destilliert mit dem Methylalkohol in die Vorlage), muß der Formaldehydgehalt im Destillat berücksichtigt werden.

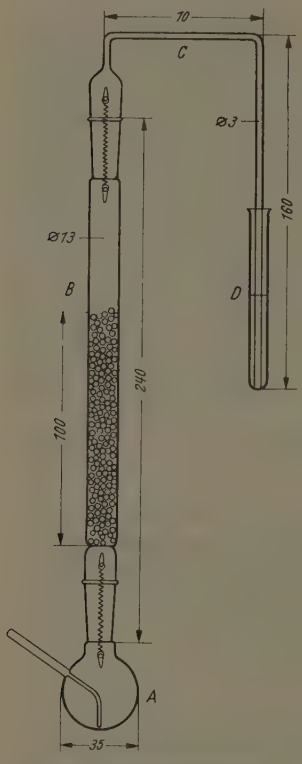


Abb. 1. Destillationsapparatur nach LANGEJAN

[1] Pharmac. Weekbl. **92**, 667—670 (1957) [Holländisch]. Rijksuniv. Utrecht (Holland). — [2] Analyt. Chemistry **27**, 1662 (1955); vgl. diese Z. **152**, 303 (1956). K. MACHNER

Zur Bestimmung von Coffein bei Gegenwart von Antipyrin empfiehlt E. SJÖSTRÖM[1] eine einfache Methode. Die wäßrige Lösung der genannten Verbindungen wird durch eine Säule filtriert, die mit einem Kationenaustauscher in der Ferriform bepackt ist. Dabei reagiert das Antipyrin mit Eisen(III) unter Bildung stabiler Komplexverbindungen, die quantitativ in der Säule zurückgehalten werden. Das Coffein läßt sich dann bei erhöhter Temperatur mit Wasser vom Harz lösen und kann anschließend im Eluat spektrophotometrisch bestimmt werden. — *Arbeitsweise.* 25 ml der wäßrigen Probelösung werden auf eine Austauschersäule (Länge 16 cm, ⌀ 9 mm) gebracht, die wie folgt vorbereitet wird: Man schlämmt das Harz (Dowex 50, Korngröße 0,15—0,30 mm) in die Säule ein und läßt anschließend 50 ml 10%ige $FeCl_3$-Lösung durchlaufen. Mit Wasser wird nachgewaschen, bis das Eluat eisenfrei ist und bei 271 mμ keine nennenswerte Absorption mehr zeigt. Man stellt dann die Austauschersäule in einen Thermostaten, der auf eine Temperatur von 70 $\pm$ 0,5° C eingestellt ist, filtriert die Probelösung mit einer Durchlaufgeschwindigkeit von 1 ml/min, eluiert das Coffein mit 200 ml Wasser (dabei wird die Fließgeschwindigkeit allmählich auf 4 ml/min erhöht) und photometriert die erhaltene Coffeinlösung bei 271 mμ unter

Verwendung von 1 cm-Quarzküvetten. Bei Gegenwart von Phenacetin in der Probe wird das Coffein im Eluat gewichtsanalytisch als Phosphomolybdat bestimmt[2]. Auch die Überführung von Phenacetin in Phenetidin und die folgende UV-photometrische Bestimmung von Coffein im UV ist möglich. Nach den mitgeteilten Analysenzahlen lassen sich noch 25 mg Coffein neben 250 mg Antipyrin mit einem durchschnittlichen Fehler von 1% bestimmen.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **16**, 428—430 (1957). Lääketehdas Orion Oy, Pharmac. Manufact., Helsinki (Finnland). — [2] Pankratz, R. E., u. F. J. Bandelin: J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **45**, 364 (1956); vgl. diese Z. **156**, 220 (1957). K. Machner

Die Bestimmung von Theophyllin (I) oder Aminophyllin (II) durch nichtwäßrige Titration empfiehlt M. A. McEniry[1]. *Ausführung.* Man löst eine, etwa 150 mg I oder II entsprechende Probe des Analysenmaterials in 25 ml Dimethylformamid (DMF), gibt 2 Tropfen einer 1%igen Lösung von Thymolblau in DMF zu, bedeckt das Gefäß mit einem Stück Pappe, durch das die Bürettenspitze hindurchgeführt wird, und titriert mit 0,1 n Natriummethylatlösung, die nach der Vorschrift der USP XV hergestellt wird, rasch unter Verwendung eines Magnetrührers. Der Natriummethylatverbrauch muß durch eine Leertitration von 25 ml DMF korrigiert werden. Die Methode ist genauer als das USP XV-Verfahren.

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **40**, 926—929 (1957). Dep. Health, Educ., Welfare, St. Louis, Mo. (USA). K. Söllner

Bei der Bestimmung von Aminophyllin und Phenobarbital in pharmazeutischen Präparaten nach der Vorschrift 32.21—32.24 der Food and Drug Administration, (Department of Health, Education and Welfare, Cincinnati, Ohio) zeigt, wenn die Zubereitungen Stearinsäure oder Stearate enthalten, das alkalische Filtrat eine Trübung, die die Lichtabsorption der Lösung bei 240,5 mμ ungünstig beeinflußt. R. Hyatt[1] behebt diese Störung, indem er das ammoniakalische Filtrat ansäuert, wodurch die kolloid gelöste Stearinsäure ausflockt, nochmals filtriert und das blanke Filtrat wieder alkalisiert. Die nach dieser Manipulation gemessenen Extinktionswerte sind zuverlässig.

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **40**, 800—802 (1957). Food a. Drug Admin., Cincinnati, Ohio (USA). K. Söllner

F. Horák und J. Gašperík[1] beschreiben ein einfaches Bestimmungsverfahren für *Ephedrin*, das auf der alkalischen Spaltung[2] und Titration des freigesetzten Methylamins beruht. Das Verfahren eignet sich zur Ephedrinbestimmung in reinen Lösungen, Injektionsflüssigkeiten und in Tabletten. *Adrenalin* reagiert nicht quantitativ und kann auf diese Art nicht bestimmt werden. — *Ausführung.* Man erhitzt die zu untersuchende Lösung mit 30%iger Alkalilauge im Kjeldahl-Halbmikrodestillationsapparat und destilliert das Methylamin unter Zugabe von Wasser in vorgelegte 0,1 n oder 0,02 n Säure. Die relativen Bestimmungsfehler sind kleiner als $\pm$ 1%.

[1] Chem. Zvesti **11**, 558—561 (1957) [Slowakisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Techn. Hochsch. Bratislava (ČSR). — [2] Feigl, F., u. H. E. Feigl: Helv. chim. Acta **38**, 459 (1955); vgl. diese Z. **150**, 73 (1956). A. Kurtenacker

Über die Bestimmung von Phenyläthylaminen in Arzneimitteln berichtet F. A. Rotondaro[1]. Die Amine werden mit Chloroform aus der Probe extrahiert und anschließend in schwefelsaurer Lösung spektrophotometrisch bestimmt. — *Arbeitsweise.* Die fein gemahlene Arzneimittelprobe (Tabletten oder Kapseln) mit einem Amingehalt von 25—50 mg wird in einem Zentrifugenglas mit 1 n Schwefelsäure

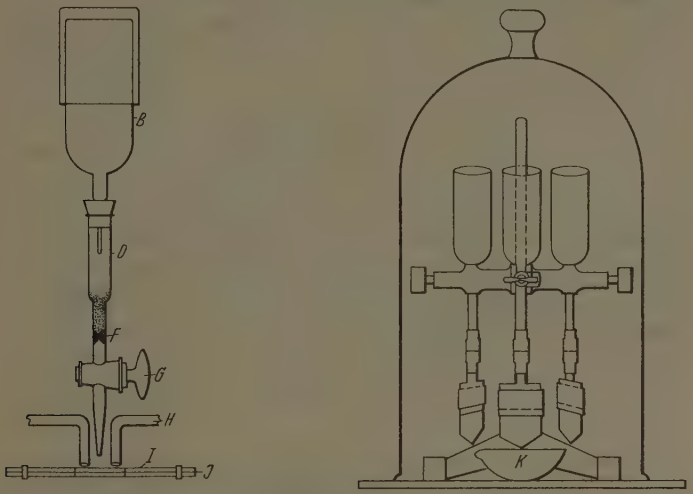
bis zur sauren Reaktion (Lackmuspapier) versetzt. Anschließend gibt man 20 ml Chloroform und 7 ml 1 n Natronlauge zu, schüttelt 3—5 min, zentrifugiert 3—5 min bei 1500—1800 U/min, versetzt einen aliquoten Teil (10 ml) der klaren Chloroformschicht in einem Scheidetrichter mit 10—15 ml 0,1 n Schwefelsäure und schüttelt nicht zu heftig 2—3 min. Die organische Schicht wird in einem zweiten Scheidetrichter mit 10 ml der 0,1 n Schwefelsäure erneut geschüttelt. Man wäscht die beiden Schwefelsäurelösungen mit 5 ml Chloroform, verwirft die Waschlösung, filtriert über mit Wasser angefeuchtete Baumwolle in einen 50 ml-Meßkolben, wäscht mit 0,1 n Schwefelsäure nach, füllt mit der Säure zur Marke auf und mißt die Extinktion bei 252—262 mμ (siehe unten) in 1 cm-Quarzküvetten gegen eine Blindlösung. Diese wird wie folgt angesetzt: Man schüttelt 25 ml 0,1 n Schwefelsäure mit 3—5 ml Chloroform, verwirft die Chloroformschicht, filtriert die Schwefelsäurelösung über Baumwolle in einen 50 ml-Meßkolben und füllt mit 0,1 n Schwefelsäure zur Marke auf. — Mit Hilfe einer Standardlösung wird die spezifische Extinktion bestimmt. Man löst dazu 500—700 mg des entsprechenden Phenyläthylaminsalzes in 0,1 n Schwefelsäure und füllt mit der Säure im 100 ml-Meßkolben zur Marke auf. 10 ml dieser Standardlösung werden im Zentrifugenglas unter Schütteln mit etwa 0,5 g pulverisiertem Natriumsulfat versetzt. Man gibt 20 ml Chloroform und 2 ml 1 n Natronlauge zu, schüttelt 3—5 min, zentrifugiert und setzt die Analyse in der oben beschriebenen Weise fort. — Für die jeweiligen Phenyläthylamine werden im angegebenen Spektralbereich 3 charakteristische Absorptionen gemessen; ein Absorptionsmaximum bei 256—258 mμ und zwei benachbarte Minima bei 252—255 mμ bzw. 260—262 mμ. Unter Anwendung der bereits früher von N. Wright[2] sowie B. Davidow und G. Woodard[3] beschriebenen Methode wird rechnerisch ausgewertet. — In einer Gemeinschaftsarbeit sind von verschiedenen Laboratorien die nachstehend genannten Phenyläthylamine nach der beschriebenen Methode photometrisch bestimmt worden: *β-Phenyläthylamin, Amphetamin, Methamphetamin, Mephentermin, Vonedrin, Ephedrin* und *Propadrin*. Die Beleganalysen zeigen gute Übereinstimmung mit den erwarteten Werten.

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **40**, 824—837 (1957). Dep. Health, Educat., Welfare, Philadelphia, Pa. (USA). — [2] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **13**, 1 (1941). — [3] J. Assoc. off. agric. Chemists **32**, 751 (1949). K. Machner

Ein chromatographisch-densitometrisches Verfahren zur Bestimmung der Solanaceen-Alkaloide beschreiben T. J. Quinn, J. G. Jeffrey und W. C. MacAulay[1]. — *Ausführung.* Man stellt nach der Vorschrift der British Pharmacopoeia einen Auszug aus dem zu analysierenden Präparat her und bringt auf Streifen von Whatman-Papier Nr. 1 von etwa 15 × 50 cm Größe je 5 Startflecken durch Auftropfen von je 5 μl Lösung. Dann entwickelt man 7 Std aufsteigend mit einer wassergesättigten Mischung von 100 Teilen n-Butanol und 5 Teilen Eisessig bei 30° C. Auf die gleiche Weise chromatographiert man die Reinalkaloide Atropinsulfat, Hyoscyaminsulfat und Scopolaminhydrobromid, indem man Flecke ihrer Lösungen mit je 1, 2, ... bis 10 μg der Alkaloide/μl auf die Startpunkte bringt. Die Sichtbarmachung der Flecken erfolgt durch Tauchen der Chromatogramme in ein nach E. W. Grant und E. E. Kennedy[2] modifiziertes Dragendorff-Reagens. Nun ermittelt man unter Zuhilfenahme einer Wolframlampe mittels eines Densitometers „Densichrom" unter Vorschaltung eines Grünfilters Umfang bzw. Fläche und maximale Lichtabsorption der Alkaloidflecke und vergleicht sie mit den Werten der Standardflecken (Diagramm im Original).

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **46**, 384—386 (1957). Univ. Saskatoon, Saskatchewan (Canada). — [2] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **44**, 129 (1955); vgl. diese Z. **152**, 315 (1956). K. Söllner

Zur Extraktion von Drogen und der darauf folgenden papierchromatographischen Trennung der extrahierten Alkaloide schlagen D. I. FRENCH und M. R. GIBSON[1] die folgende *Arbeitsweise* vor. Man bringt die Droge in das bürettenähnliche Gefäß *D* (Abb. 2a), das bei *F* einen Baumwollverschluß hat, und extrahiert mit dem in *B* befindlichem Lösungsmittel. Der Extrakt tropft durch den Hahn *G* auf das Chromatographierpapier *J*, das sich zwischen den Glasplatten *I* befindet. Diese Glasplatten haben unter der Auftropfstelle ein Loch von etwa 2,5 cm Durchmesser. Durch die



a b

Abb. 2a u. b. Extraktions- und Elutionsapparat nach FRENCH u. GIBSON

Röhre *H* wird ein lebhafter Luftstrom gepreßt, der das Lösungsmittel schnell verdunstet und so die Konzentrierung des Extraktes auf einem kleinen Fleck ermöglicht, der dann in üblicher Weise chromatographiert wird. Die Zonen, an denen sich die gesuchten Alkaloide befinden, werden ausgeschnitten und in der Art, wie es Abb. 2b zeigt, eluiert. Nach Vertreiben des Lösungsmittels aus der Schale *K* kann der Rückstand geprüft werden. — *Anwendungen.* Zur Bestimmung von *Hyoscyamin und Hyoscin in der Droge von Datura tatula L.* befeuchtet man 25 mg Drogenpulver mit einer Mischung von gleichen Teilen 10%iger NH_3-Lösung und 95%igem Äthanol. Nach 1 Std extrahiert man mit 25 ml Chloroform und entwickelt den auf Whatman-Papier Nr. 1 aufgetropften Extrakt 10 Std mit dem Gemisch aus 15 ml konz. Salzsäure und 100 ml wassergesättigtem 1-Butanol. Die ausgeschnittenen Alkaloidflecken eluiert man etwa $3^1/_2$ Std mit 30 ml einer 3%igen Salzsäure in 10%igem Äthanol. Es gelingt, 99,6 $\pm$ 0,4% des vorhandenen Hyoscyamins wiederzufinden, wenn 0,05—0,2 mg eingesetzt waren.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1166—1167 (1957). State Coll. Pullman, Wash. (USA).
D. JENTZSCH

L. MOLNÁR und K. MOLNÁROVÁ[1] erweitern frühere Versuche von L. MOLNÁR[2] und berichten nun über die *oscillographisch-polarographische Identifizierung von Chinin, Chinidin, Cinchonin, Cinchonidin, Euchinin, Aristochin, Optochin, Eucupin,*

Vuzin, Cinchotoxin und Chinotoxin in 1 n LiCl-, 1 n LiOH-, 1 n NaOH- und 1 n H_2SO_4-Lösung an der tropfenden und an der strömenden Quecksilberelektrode. Jeder der genannten Stoffe ist durch Oscillogramme mit charakteristischen Einschnitten gekennzeichnet, die an Hand von Abbildungen genau beschrieben werden und die besonders unter Zuhilfenahme des Zweistrahloscillographen[3] die Unterscheidung der einzelnen Alkaloide nebeneinander ermöglichen. In einer Tabelle sind die Depolarisationspotentiale der untersuchten Stoffe in den verschiedenen Elektrolytlösungen zusammengestellt.

[1] Chem. Zvesti **11**, 259—266 (1957) [Slowakisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Chem. Inst., Akad. Wiss. Bratislava (ČSR). — [2] Acta chim. Acad. Sci. hung. **9**, 273 (1956); vgl. diese Z. **160**, 207 (1958). — [3] Molnár, L., u. K. Molnárová: Chem. Zvesti **10**, 227 (1956); vgl. diese Z. **154**, 134 (1957). A. Kurtenacker

J. Bayer[1] gibt ein *Verfahren zur UV-spektrophotometrischen Bestimmung der nativen Mutterkornalkaloide* an. Sämtliche nativen Mutterkornalkaloide zeigen bei 315—318 mμ, die hydrierten bei 270 mμ ein Absorptionsmaximum. Das weist darauf hin, daß Lysergsäure oder deren Isomeres die Absorption verursacht. Es ist somit möglich, eine Eichkurve mit Lysergsäure zu bereiten, die bei 317 mμ im Konzentrationsbereich von 2—50 μg Lysergsäure/ml gerade verläuft. Der spezifische Extinktionswert der Lysergsäure beträgt 273,5. Zur Analyse werden die nativen Alkaloide direkt oder indirekt in Weinsäure gelöst und die weinsauren Lösungen verwendet. Die Konzentration der Weinsäure beeinträchtigt die Extinktion in geringem Maße, es wird am besten eine 1%ige Lösung bereitet. Die Genauigkeit schwankt zwischen 1—4%. Die fertigen Lösungen dürfen nicht lange stehen, weil infolge Bildung von Luminalkaloiden die Extinktionswerte mit der Zeit abnehmen.

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **63**, 197—200 (1957) [Ungarisch]. Köbányai Gyógyszerárugyár, Budapest (Ungarn). J. Plank

Über die quantitative Analyse einiger Mutterkornalkaloide berichten A. L. Kapoor, H. Schumacher und J. Büchi[1] unter Zugrundelegung der von W. Soffel und H. Rochelmeyer[2] ausgearbeiteten kombinierten papier- und säulenchromatographischen Verfahren zur Analyse von „Secale concentratum Stada" (ein gereinigter Secale-Extrakt, der 10% Secale-Alkaloidbasen enthält). Die *papierchromatographische Trennung von Ergokristin, Ergotamin, Ergometrin* und ihrer rechtsdrehenden Isomeren wird nach folgenden Vorschriften durchgeführt: a) Die *Trennung der wasserlöslichen Alkaloide Ergometrin und Ergometrinin* erfolgt absteigend auf Whatman-Papier Nr. 1 mit dem Lösungsmittel n-Butanol-Eisessig-Wasser (man versetzt in einem Scheidetrichter 250 ml n-Butanol mit 250 ml Wasser und 60 ml Eisessig, schüttelt kräftig, läßt das Gemisch 12 Std stehen und verwendet die Butanolschicht). Nach einer Laufzeit von 14 Std werden die Chromatogramme getrocknet und im UV-Licht ausgewertet. Die R_f-Werte sind mit 0,56 für Ergometrin und 0,63 für Ergometrinin angegeben. Alle wasserunlöslichen Secale-Alkaloide laufen mit der Lösungsmittelfront. — b) Zur *Trennung der wasserunlöslichen Alkaloide Ergotamin, Ergotaminin, Ergokristin und Ergokristinin* werden Filterpapierstreifen (Schl. & Sch. Nr. 2043b) mit einem Gemisch aus Aceton und Formamid (60:40) imprägniert. Man läßt die Papiere 5 min trocknen, trägt dann die Probelösung auf und chromatographiert mit Benzol als beweglicher Phase über eine Laufzeit von 2—3 Std. Die Chromatogramme werden anschließend sofort im UV-Licht beobachtet und ausgewertet. Die R_f-Werte von Ergotamin, Ergotaminin, Ergokristin und Ergokristinin sind mit 0,17, 0,45, 0,66 und 0,71 angegeben. Die untersuchten Alkaloide lassen sich papierchromatographisch sehr empfindlich mit Hilfe von UV-Licht nachweisen. In 200 μg Untersuchungsmaterial (Reinalkaloidgemisch) können noch 0,2% Ergotamin, 0,125% Ergotaminin, 0,25% Ergokristin,

0,15% Ergokristinin, 0,5% Ergometrin und 0,25% Ergometrinin ermittelt werden (Fehlergrenze ± 10%). — Die *Trennung von Ergotamin, Ergokristin und Ergometrin auf der Aluminiumoxydsäule* kann nach der von SOFFEL und ROCHELMEYER[2] angegebenen Arbeitsvorschrift einwandfrei durchgeführt werden (genaue Beschreibung im Original). Zur quantitativen Bestimmung der genannten Alkaloide in den Eluaten wird jedoch an Stelle der Blauwertbestimmung mit Hilfe des van Urkschen Reagenses die UV-spektrographische Bestimmung der getrennten Secale-Alkaloide empfohlen. Sie gestattet eine Bestimmungsgenauigkeit von durchschnittlich ± 2%. Die Spektren von Ergotamin und Ergokristin in reinem Methylenchlorid und von Ergometrin in Methylenchlorid, das zur Erhöhung der Löslichkeit 5% Methanol enthält, zeigen alle charakteristische Absorptionsmaxima bei 308—310 mμ. — Bei der Untersuchung über die *chemische Veränderung der Alkaloide während des Chromatographierens* konnte festgestellt werden, daß gewisse Lösungsmittel die Isomerisierung von Secale-Alkaloiden zu ihren rechtsdrehenden Formen bewirken. Die Isomerisierung nimmt zu in der Reihenfolge Benzol < Dioxan < Aceton < Äther < Methylenchlorid < Chloroform < Tetrachlorkohlenstoff < Äthanol. Je länger die Alkaloidlösungen aufbewahrt werden, je weiter gehen die Umsetzungen vor sich. Die Isomerisierungsgeschwindigkeit ist am größten beim Ergotamin, dann folgt Ergokristin und schließlich Ergometrin. Diese Umsetzungen sind beim Herstellen von Lösungen zur Chromatographie und beim Entwickeln der Chromatogramme zu berücksichtigen. Die Untersuchungen sollen daher stets mit frischen Alkaloidlösungen möglichst rasch durchgeführt werden und es sind nur die inerten Lösungsmittel (Benzol, Dioxan, Aceton, Äther und gegebenenfalls Methylenchlorid) zu verwenden.

[1] Pharmac. Acta Helvetiae **32**, 411—427 (1957). ETH Zürich (Schweiz). — [2] Pharmaz. Ztg.-Nachr. **101**, 1059 (1956). K. MACHNER

Über die quantitative papierchromatographische Bestimmung von Ergotamin(I) und Ergotoxin(II) auf Grund der Verschiebung ihrer R'$_f$-Werte bei wechselnder Konzentration berichten D. D. JONES, H. KATYAMA und V. E. TYLER jr.[1]. — *Arbeitsweise.* Man tränkt 1,25 × 52 cm große Streifen von Whatman-Papier Nr. 1 mit McILVAINE-Puffer von p_H 4,0, trocknet sie an der Luft und beschickt die Startpunkte tropfenweise mit je 10 μl der alkoholischen Lösungen der nach V. E. TYLER jr. und A. E. SCHWARTING[2] hergestellten Alkaloidbasen, indem man vor dem Auftragen eines neuen Tropfens den Lösungsalkohol verdunsten läßt, so daß die Startpunkte Mengen von je 10, 15, 20, 25 und 30 μg I bzw. II enthalten. Nachdem die Streifen 2 Std lang in der mit Chloroformdampf gesättigten Atmosphäre der Chromatographierkammer aufbewahrt worden sind, entwickelt man sie nach der Technik von H. BRINDLE, J. E. CARLESS und H. B. WOODHEAD[3] 90 min lang bei konstanter Temperatur mit Chloroform, das mit 0,1 m Citronensäurelösung gesättigt worden ist. Die Lokalisierung der Alkaloidflecke erfolgt durch Bestrahlung der getrockneten Chromatogramme mit UV-Licht. Die gefundenen R'$_f$-Werte sind dann proportional der Menge des eingesetzten Alkaloides. Zur Ermittelung unbekannter Alkaloidkonzentrationen arbeitet man analog, man läßt dabei, um die durch Unterschiede in der Struktur des Papieres bedingten Unregelmäßigkeiten zu eliminieren, jedesmal eine Bezugsmenge von 10 μg des betreffenden Alkaloides mitlaufen (R'$_{f_{10}}$). Berechnet man die Unterschiede der R'$_f$-Werte ($\Delta R'_f$) nach der Formel: $\Delta R'_f = R'_f \cdot \mu g\ \text{Alkaloid} - R'f_{10}\ \mu g\ \text{Alkaloid}$ und trägt man die so gefundenen Werte in ein Koordinatensystem ein, so liegen diese auf einer Geraden (Diagramm im Original).

[1] J. Amer pharmac. Assoc., sci. Edit. **46**, 426—427 (1957). Univ. Lincoln, Nebraska (USA). — [2] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **41**, 354 (1952). — [3] J. Pharmacy Pharmacol. **3**, 793 (1951); vgl. diese Z. **136**, 149 (1952). K. SÖLLNER

Zum Reinheitsnachweis und zur Auftrennung von Strychnos-Alkaloiden entwickeln J. Büchi und H. Schumacher[1] ein Chromatographierverfahren entsprechend den Versuchsbedingungen des Verfahrens A der früheren Mitteilungen[2]. Hierbei dient das organische Lösungsmittel als mobile Phase. Sie stellen fest, daß *Strychnin* am besten mit Dragendorff-Reagens und *Brucin* mit Kiefer-Reagens zu erkennen sind. Entsprechend wird für die Ph. Helv. V eine Pharmakopöe-Vorschrift zum *Reinheitsnachweis für Strychninum nitricum* aufgestellt. Die gefundenen R_f-Werte für Strychnin und Brucin sind 0,61 bzw. 0,39 bei p_H 6,6. Nebenalkaloide lassen sich abtrennen. Beim Lagern von Lösungen der Alkaloide in Chloroform, Alkohol oder Äther treten Zersetzungen ein, über die demnächst berichtet werden soll.

[1] Pharmac. Acta Helvetiae **32**, 375—382 (1957). Eidg. Techn. Hochschule Zürich (Schweiz). — [2] Pharmac. Acta Helvetiae **32**, 80 (1957); vgl. diese Z. **159**, 378 (1957). B. Rossmann

Analyse von Rauwolfia serpentina. D. Banes[1] berichtet, daß bei der vergleichenden Durchführung der UV-spektrophotometrischen Untersuchungsmethode von J. Carol, D. Banes, J. Wolff und H. O. Fallscheer[2] und des colorimetrischen Verfahrens der gleichen Autoren[3], bei dem die Alkaloide *Reserpin* und *Rescinnamin* durch Einwirkung von salpetriger Säure in gefärbte Substanzen übergeführt werden, gute Übereinstimmung der Analysenwerte erzielt worden sind (Tabellen im Original, ohne experimentelle Angaben).

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **40**, 798—800 (1957). Food a. Drug Admin. Washington, D. C. (USA). — [2] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **45**, 200 (1956). — [3] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **45**, 708 (1956). K. Söllner

Die papierelektrophoretische Trennung von Reserpin aus den Gesamtalkaloiden der Rauwolfia serpentina Benth gelingt nach K. Yamaguchi, H. Shōji und K. Nishimoto[1] in 5 n Essigsäure als Elektrolytlösung, wenn 2 Std bei 25—27° C und mit 700 V/33 cm Streifenlänge elektrolysiert wird. Der Papierstreifen wird nicht in einer üblichen feuchten Kammer, sondern in einem Rohr nach Art eines Liebig-Kühlers horizontal ausgespannt, so daß Verdunstungseffekte oder Temperaturschwankungen weitgehend ausgeschaltet sind. Untersucht werden Proben reinen Reserpins, der Gesamtalkaloide und von drei Fraktionen, die aus diesen Gesamtalkaloiden durch Extraktion mit Chloroform in Pufferlösungen von p_H 6,5, 6,7 und 12,0 gewonnen werden. Bei p_H 6,5 wird die beste Abtrennung des Reserpins erzielt. Der Wanderweg beträgt 102 mm gegenüber 105 mm für die Elektrophorese des reinen Reserpins. Im Pherogramm der Gesamtalkaloide sind durch Fluorescenz im UV-Licht insgesamt 9 Zonen erkennbar. — In einer weiteren Studie berichten K. Yamaguchi, T. Tabata und H. Shōji[2] über die *quantitative fluorimetrische Bestimmung des Reserpins im Pherogramm*, also auf dem Papier. Die Bestimmung gelingt, wenn das Pherogramm einem Gemisch von Essigsäure- und Wasserstoffperoxyddampf bei 105° C ausgesetzt und nach dem Erkalten bei 500 ± 50 mμ fluorimetrisch untersucht wird. Die Intensität der Fluorescenz ist für 0,2—1,5 μg auf Whatman-Papier Nr. 1 der Reserpinmenge linear proportional.

[1] J. pharmac. Soc. Japan **77**, 337—340 (1957) [Japanisch]. Nat. Hyg. Lab., Tokyo (Japan). — [2] J. pharmac. Soc. Japan **77**, 341—346 (1957) [Japanisch]. (Beide Arbeiten nach engl. Zus.fass. ref.) K. Cruse

4. Analyse von biologischem Material

Literatur. Březina, M., und P. Zuman: *Die Polarographie in der Medizin, Biochemie und Pharmazie.* Bearbeitete und ergänzte Übersetzung aus dem Tschechischen von H. Bažantová. 800 Seiten mit 337 Abbildungen und

zahlreichen Tabellen. Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G., Leipzig 1956. Preis geb. 48,— DM.

Das mit einem Bild der Professoren Dr. J. Heyrovský und Dr. R. Brdička geschmückte Buch ist aus der im Jahre 1952 veröffentlichten tschechischen Ausgabe entstanden. Der Inhalt hat aber anläßlich der Übersetzung eine starke Erweiterung (von 500 auf 800 Seiten) erfahren, die Zahl der Literaturzitate ist von 1000 auf 2000 gestiegen. Die Literatur ist bis zum Jahre 1954 erschöpfend erfaßt, aus dem Jahre 1955 sind einige Arbeiten berücksichtigt. Wie J. Heyrovský in der Vorrede bemerkt, haben die Verff. die meisten Vorschriften und Reaktionen kritisch nachgeprüft und nach ihren Erfahrungen bewertet. Jede Vorschrift ist so klar dargestellt, daß sie auch einem in der Polarographie unerfahrenen analytischen Chemiker oder chemisch geschulten Laboranten zur Durchführung genügen wird. — Das Werk ist deshalb für Ärzte und physikochemische Forscher der einschlägigen Fachrichtungen sowie auch für analytische Chemiker von großem Wert. A. Kurtenacker

Über einige moderne apparative Hilfen im klinischen Laboratorium berichtet D. Donner[1]. Nach kurzer Darstellung von Theorie und Bauprinzipien einzelner Geräteklassen werden Modelle verschiedener Firmen vorgestellt. Für die zweidimensionale Papierchromatographie empfiehlt Verf. die vielseitig brauchbare durchsichtige Kunststoffkammer aus Trovidur von Desaga, zur quantitativen Auswertung von Papierchromatogrammen die von der Fa. Lange, Berlin, gebauten Chromatometer, als vollautomatischen Fraktionsschneider den Chromatopart (Bender & Hobein, München). Alle Apparate werden ausführlich beschrieben.

[1] Röntgen- u. Laborat.-Praxis **10**, 289—292 (1957). K. Machner

Über die Fluorimetrie im Dienste der medizinischen Chemie geben K. Weber und F. Valić[1] eine ausführliche Darstellung an Hand zahlreicher Literaturhinweise. Nach Besprechung der Theorie der Fluorescenzerscheinungen werden die beiden möglichen Arbeitsweisen erläutert, nämlich die Analyse mit Hilfe von Eichkurven und die Analyse durch Bestimmung der Extinktion und Berechnung auf Grund des Beerschen Gesetzes. Die Beschreibung der fluorimetrischen Apparatur umfaßt die Lichtquellen (Hochdruck- und Niederdruck-Quecksilberlampen, spezielle Glühlampen, die viel UV-Licht emittieren), und zwei Fluorimeter, von denen das eine im durchfallenden primären Licht, das andere im auffallenden Licht arbeitet. Den Abschluß bilden Beispiele für die vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten der Fluorimetrie, so zur Bestimmung der Porphyrine, des Adrenalins, der Alkaloide, karcinogener Stoffe und verschiedener Vitamine.

[1] Arh. Hig. Rada (Zagreb) **8**, 39—60 (1957) [Kroatisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Inst. f. mediz. Forsch., Zagreb (Jugoslawien). A. Kurtenacker

Neue Ultramikromethoden für klinisch-chemische Untersuchungen bespricht M. C. Sanz[1]. Neben den Verfahren der Flammenphotometrie und Papierelektrophorese lassen sich auch die anderen Analysenmethoden so umstellen, daß nur Kleinstmengen an Untersuchungsmaterial benötigt werden. Die hierbei vorkommenden Arbeitsgänge wie Pipettieren, Zentrifugieren, Titrieren u. a. müssen mit besonderen Instrumenten durchgeführt werden, die zumeist aus Polyäthylen hergestellt sind. Verf. beschreibt diese Vorrichtungen und gibt an, wie beispielsweise Substanzmengen von der Größenordnung von 0,01 ml zentrifugiert, pipettiert, titriert oder photometriert werden können.

[1] Röntgen- u. Laborat.-Praxis **10**, 281—284 (1957). Hôpital Cantonal, Genf (Schweiz). K. Söllner

Die Abtrennung des Natriums und Kaliums vom Calcium in Auflösungen von Knochen haben N. Norman, J. C. Beck und J. S. L. Browne[1] ähnlich wie G. B. Forbes und M. D'Ambrusio[2] sowie G. B. Forbes und A. Lewis[3] mit einem Kationenaustauscher (Dowex-50, 400 mesh, Vernetzungsgrad 12%) vorgenommen. Gegenüber den gleichzeitig und unabhängig von Forbes und Mitarb.[2,3] entwickelten Methoden hat die neue Methode den Vorteil, daß die Analyse schneller ausgeführt werden kann, weil eine kleinere Austauschersäule verwendet wird. So kann z. B. an Stelle des Na-22 das kurzlebigere Na-24 bei Indicatorversuchen benutzt werden. Man bringt die Austauschersäule (20 × 1,2 cm) mit 300 ml 3 n Salzsäure (Durchflußgeschwindigkeit 2 ml/min) in die H-Form, wäscht mit 200 ml dest. Wasser und bringt die Knochenlösung auf. Zur Herstellung der Knochenlösung werden 0,2 g Knochen in 1 ml konz. Salpetersäure gelöst und mit Wasser auf 10 ml verdünnt. Man wäscht die Säule nach dem Aufgeben der Knochenlösung noch mit 10 ml Wasser nach und eluiert anschließend mit 1 n Salzsäure(0,8 ml/min). Im Eluat tauchen zuerst das Natrium, dann das Kalium und anschließend erst das Calcium auf. Vom Natrium werden 98—102% wiedergefunden, vom Kalium 93—95%.

[1] J. Lab. clin. Med. **50**, 308—312 (1957). McGill Univ. u. Univ. Clin. Montreal (Canada). — [2] J. biol. Chemistry **212**, 655 (1955); vgl. diese Z. **150**, 133 (1956). — [3] Proc. Soc. exp. Biol. Med. **90**, 178 (1955). Klaus Brodersen

Zur komplexometrischen Bestimmung von Kalium im Blutserum haben H. Flaschka, A. Holasek und M. Rosenthal[1] eine verbesserte Methode ausgearbeitet. Das Kalium wird in üblicher Weise als Kobalt(III)-nitritverbindung gefällt, gewaschen und in Salzsäure gelöst. Der Niederschlag wird jedoch nicht, wie früher angegeben[2] mit Murexid als Indicator, sondern mit Hilfe des PAN-Indicators in Gegenwart von Cu-ÄDTA titriert. Außerdem wird die Bestimmung dadurch beschleunigt, daß man nicht zentrifugiert, sondern filtriert. — *Arbeitsweise.* Zur Eiweißfällung versetzt man 2 ml Serum mit 2 ml 20%iger Trichloressigsäure, läßt einige Minuten stehen und zentrifugiert. 2 ml der überstehenden klaren Flüssigkeit werden zur Fällung des Kaliums mit 0,5 ml 50%iger Natriumacetatlösung und 1 ml Natriumkobalt(III)-nitritlösung versetzt (3 g des Reagenses werden in 10 ml dest. Wasser oder 1%iger Na-nitritlösung gelöst). Man läßt das Reaktionsgemisch mindestens 3 Std stehen, saugt dann die Lösung mit einem Filterstäbchen B 2 ab und wäscht den Niederschlag 2mal mit 2—3 ml gekühltem dest. Wasser. Man beläßt das von der Pumpe abgenommene Stäbchen im Becherglas, gibt wenig Harnstoff, 1 ml 1 n Salzsäure und 2—4 ml dest. Wasser zu, kocht auf und spült das Filterstäbchen ab. Dann versetzt man die jetzt 10—15 ml betragende Lösung mit 0,5 ml der 50%igen Natriumacetatlösung, erhitzt zum Sieden, reduziert das Kobalt mit einigen Kriställchen Ascorbinsäure, fügt 2 Tropfen Kupfer-ÄDTA-Lösung[3] und 2—4 Tropfen 0,05%iger äthanolischer PAN-Lösung zu und titriert unmittelbar danach die heiße Lösung mit 0,001 m ÄDTA-Lösung, wobei man die Maßlösung gegen Ende der Titration langsam zufließen läßt. Der Titrationsendpunkt ist erreicht, wenn sich die leuchtend gelbe Farbe nach Zusatz von 1 oder 2 Tropfen Maßlösung nicht mehr ändert (die ursprüngliche violette Farbe beginnt bereits 5—8 Tropfen vor dem Endpunkt nach Gelb umzuschlagen). Eine Blindwertbestimmung wird durchgeführt. Zur Berechnung multipliziert man den Verbrauch an 0,001 m Maßlösung mit dem Faktor 6,3.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **308**, 183—186 (1957). Univ. Graz (Österreich). — [2] Flaschka, H., u. A. Holasek: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **303**, 9 (1956); vgl. diese Z. **153**, 450 (1956). — [3] Flaschka, H., u. H. Abdine: Chemist-Analyst **45**, 58 (1956); Mikrochim. Acta **1956**, 770; vgl. diese Z. **153**, 120 (1956); **156**, 357 (1957). K. Machner

Zur Magnesiumbestimmung in Serum und Urin empfiehlt E. ANDREASEN[1] die Methode mit *Titangelb*[1] bei Anwesenheit von *Polyvinylalkohol*[2]. Die Magnesiumbestimmung wird durch die Anwesenheit von Calcium, Oxalat und Phosphat im Serum und Urin nicht wesentlich beeinflußt. Der Verf. untersucht nochmal eingehend die Einflüsse der Versuchsbedingungen und weist besonders auf die Erhöhung der Empfindlichkeit der photometrischen Magnesiumbestimmung durch die Anwesenheit von Polyvinylalkohol hin. Zur Ausführung der Bestimmung dient eine gegenüber den Angaben von M. ORANGE und H. C. RHEIN[3] etwas abgeänderte *Arbeitsvorschrift*. Man schüttelt 1 ml Serum (oder Urin) mit 6 ml 10%iger Trichloressigsäure und zentrifugiert noch 10 min langem Stehen. 2 ml des klaren Zentrifugats werden mit 0,5 ml 0,2%igem Polyvinylalkohol, 2,5 ml 15 mg-%iger Titangelblösung und 1 ml 20%iger Natronlauge versetzt und 10—20 min stehen gelassen. Die Extinktionsmessung erfolgt bei 540 mμ gegen Wasser bzw. (bei Urin) gegen eine gleichartig behandelte Probe, die Wasser an Stelle von Titangelblösung enthält. Leerwerte und Standardproben werden ebenso angesetzt. Die Bestimmungsfehler betragen maximal ± 5%.

[1] Scand. J. clin. Laborat. Invest. **9**, 138—143 (1957). Centralsygehuset, Holboek (Dänemark). — [2] GLEMSER, O., u. W. DAUTZENBERG: diese Z. **136**, 254 (1952). — [3] J. biol. Chemistry **189**, 379 (1951); vgl. diese Z. **135**, 313 (1952).
KLAUS BRODERSEN

Calciumbestimmung in Serum, Plasma und Harn. R. L. GOLBY, G. P. HILDEBRAND und C. N. REILLEY[1] empfehlen die Titration in natronalkalischer Lösung bei $p_H \sim 13$ mit ÄDTA-Maßlösung unter Verwendung von 1-(2-Hydroxy-1-naphthylazo)-2-naphthol-4-sulfonsäure *(Calcon)* als Indicator[2]. — *Ausführung.* 1 ml Serum wird in einem 50 ml-Becher mit 4 ml 2 m Natronlauge versetzt und mit dest. Wasser auf etwa 30 ml verdünnt. Man gibt 2 Tropfen Indicatorlösung (50 mg Calcon in 10 ml Methanol) zu und titriert schnell mit 0,05 m ÄDTA-Lösung (Mikrobürette) bis zum Farbumschlag des Indicators von Rosa nach Blau. Die Maßlösung wird gegen eine $CaCl_2$-Lösung eingestellt, die 0,1 mg Calcium/5 ml enthält. Die erhaltenen Werte zeigen gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Vergleichsanalysen.

[1] J. Lab. clin. Med. **50**, 498—500 (1957). Univ. Chapel Hill, N. C. (USA). — [2] HILDEBRAND, G. P. und C. N. REILLEY, Analyt. Chemistry **29**, 258 (1957); vgl. diese Z. **158**, 284 (1957).
K. MACHNER

Zur Mikrobestimmung von Calcium im Blutserum versetzen R. O. ASHBY und M. ROBERTS[1] die Probe bei p_H 12 mit einem Überschuß von Dinatriumäthylendiamintetraacetat (ÄDTA) und titrieren mit Calciumchlorid gegen *Calcein*[2] als Indicator im UV-Licht zurück. Mg stört nicht, Fe und Cu werden durch NaCN maskiert. Die Fehler betragen etwa 3%. — *Ausführung.* 0,2 ml des Serums versetzt man mit 1 ml der 0,002 m ÄDTA-Lösung, 1 ml Indicatorlösung (0,25 g Calcein + 4 ml 1 n Natronlauge + 30 ml Wasser; 1 ml davon auf 100 ml verdünnt) und je 3 Tr. 1%iger Natriumcyanidlösung, 1 n Natronlauge und „Anti-foam" Lösung (0,1 g „Anti-foam" [Dow Corning] + 100 ml H_2O). Dann titriert man mit der Calciumchloridlösung (2,4973 g $CaCO_3$ + 15 ml 2 n Salzsäure im Liter) unter der UV-Lampe zurück.

[1] J. Lab. clin. Med. **49**, 958—961 (1957). Res. Labs. Don Baxter, Inc., Glendale, Calif. (USA). — [2] DIEHL, H., und J. L. ELLINGBOE, Analyt Chemistry **28**, 882 (1956); vgl. diese Z. **155**, 129 (1957).
G. DENK

D. N. BARON und J. L. BELL[1] verwenden *zur direkten komplexometrischen Titration* den von B. M. TUCKER[2] angegebenen Mischindicator *(Calcein-Thymolphthalein)*.

Die Titration wird oberhalb p_H 12,5 unter Verwendung von ÄDTA-Maßlösung durchgeführt. — *Arbeitsweise.* Man versetzt 1 ml Serum oder heparinisiertes Plasma mit 5 ml Pufferlösung vom p_H 12,66 (20 ml 0,1 m Glycinlösung werden mit 80 ml 0,1 m Natronlauge gemischt) und gibt eine Messerspitze (etwa 1 mg) Mischindicator zu (0,2 g Calcein, 0,12 g Thymolphthalein und 20 g KCl werden im Mörser zu einem feinen Pulver zerrieben). Die erhaltene Lösung wird unter leichtem Schütteln gegen einen mattweißen Hintergrund mit ÄDTA-Lösung (0,93 g Dinatriumdihydrogenäthylendiamintetraacetat/Liter) bis zum Farbumschlag des Indicators von Orangegrün nach Rosa titriert (Mikrobürette). Ein Blindversuch wird entsprechend durchgeführt. Die Maßlösung wird gegen eine $CaCl_2$-Lösung eingestellt, die 0,1 mg Calcium/ml enthält. [Bei Abwesenheit des Serums (im Blindversuch und bei der Titerstellung) schlägt der Indicator von Gelbgrün nach Hellviolett um.] Die Titration kann auch mit 0,1 ml Serum im *Mikromaßstab* durchgeführt werden. Die Beleganalysen zeigen gute Übereinstimmung mit den erwarteten Werten.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **2**, 327—331 (1957). Royal Free Hospital, London (England). — [2] Analyst **82**, 284 (1957); vgl. diese Z. **160**, 285 (1958).

K. Machner

Die Calciumbestimmung im Blut und Urin von mit ÄDTA behandelten Patienten führt nach Untersuchungen von M. H. Carr und H. A. Frank[1] zu falschen Werten, weil der ÄDTA-Calciumkomplex sich der Erkennung durch die üblichen Bestimmungsmethoden entzieht. Die Verff. geben deshalb eine Methode zur Calciumbestimmung im ÄDTA-Komplex an, bei der man den p_H-Wert der Lösung nach dem Zusatz von Oxalat mit Hilfe von Essigsäure auf 3,0—5,0 einstellt (Bromkresolgrün als Indicator). In diesem p_H-Bereich fällt das Calciumoxalat auch in Gegenwart von ÄDTA quantitativ aus. Die erhaltenen Werte zeigen gute Übereinstimmung mit solchen, die nach Veraschen der Probe erhalten werden.

[1] Clin. Chemistry **3**, 20—21 (1957). Vet. Adm. Hospital, Kansas City, Mo. (USA).

Klaus Brodersen

Zur Bestimmung des ionisierten Calciums in normalem menschlichen Plasma empfiehlt G. A. Rose[1] die Ultrafiltration der Probe und die Anwendung der Bestimmungsmethode von J. Raaflaub[2] auf das Ultrafiltrat (Plasmawasser). — *Arbeitsweise.* Zur *Ultrafiltration* wird das vorbereitete Plasma in die Filtrationsapparatur (Abb. 1) eingebracht. Dazu öffnet man die Verbindung (*3*) zwischen dem Quecksilberreservoir (*4*) und dem U-Rohr, führt einen dünnen Katheter in die Filtrationshülse (*1*) ein (die Außenwand der Kollodiumhülse wird vor Gebrauch mit Löschpapier getrocknet), saugt etwa vorhandenes Wasser ab, läßt ein Gasgemisch aus Sauerstoff und feuchtem Kohlendioxyd (95:5) einströmen und füllt die Hülse sowie den aufsteigenden Schenkel des U-Rohrs bis zum Punkt 9 mit dem Plasma. Man entfernt den Katheter, schließt die Verbindung zwischen Quecksilberreservoir und U-Rohr wieder, läßt das Plasma in das Reservoir überfließen, das vorher ebenfalls mit dem feuchten O_2-CO_2-Gemisch gespült worden ist, verdrängt die Gasblasen aus dem Filtrationssystem durch Anheben des Quecksilberspiegels [dazu wird der Zweiwegehahn (*2*) geöffnet] und filtriert anschließend bei einem Druck von 650 mm Quecksilbersäule. Um die Kohlensäurespannung im Plasma während der Filtration konstant zu halten, wird das Reagensglas (*6*) durch das Rohr 8 mit dem feuchten O_2-CO_2-Gemisch gefüllt. Nach 2—4 Std werden aus 12 bis 17 ml Plasma etwa 4—7 ml Plasmawasser erhalten. Der erste Tropfen des Ultrafiltrats wird verworfen. Weitere 50 μl des Filtrats werden zur *p_H-Bestimmung* verwendet, die wie folgt ausgeführt wird. Man versetzt in einer kleinen Plastikflasche, die mit einem doppelt durchbohrten Stopfen versehen ist, mit dem gleichen

Volumen (50 μl) Phenolrot-Capillator-Indicatorlösung (British Drug Houses), gibt einen winzigen Tropfen Caprylalkohol zu, leitet durch die Lösung feuchten Sauerstoff, der mit 2,5% Kohlendioxyd versetzt ist, bis keine Farbänderung mehr beobachtet werden kann (nach etwa 3—5 min), zieht die Lösung auf ein Capillarröhrchen ab und vergleicht ihre Farbtiefe mit Standardlösungen gegen einen gleichmäßig beleuchteten Hintergrund unter Verwendung eines Vergrößerungsglases. — Zur *photometrischen Bestimmung des ionisierten Calciums* werden 2 ml Filtrat mit 0,1 ml frisch bereiteter Murexidlösung versetzt (15,1 mg Murexid in 50 ml Wasser). Man mischt gut, leitet durch das Reaktionsgemisch feuchten Sauerstoff, der 5% CO_2 enthält, bis keine Farbänderung mehr zu beobachten ist (nach etwa 3 min) und vergleicht die Extinktion der erhaltenen Farbsalzlösung bei 470 mμ gegen eine Blindlösung, die 147 mÄquiv. Na/l, 5 mÄquiv. K/l, 28,5 mÄquiv. HCO_3^-/l und 123,5 mÄquiv. Cl/l enthält. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Die Eichkurve wird nach dem beschriebenen Verfahren aufgestellt. Es werden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt. Der Spiegel des ionisierten Calciums im Plasmawasser betrug bei 7 normalen erwachsenen Personen 5,93 bis 6,50 mg/100 ml. Das Verfahren kann mit nur geringen Abänderungen auch bei Personen mit abnormen Plasma-hydrogencarbonatwerten oder -kohlensäurespannungen angewendet werden.

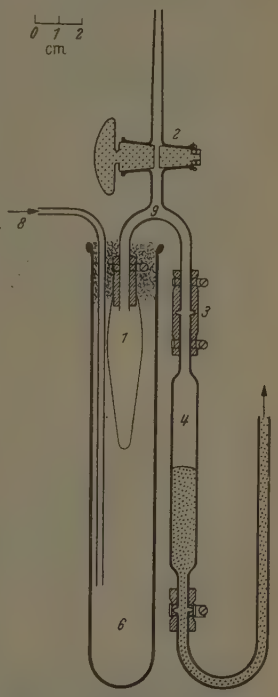


Abb. 1. Apparatur zur Ultrafiltration von Plasma nach Rose

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **2**, 227—236 (1957). Univ. Coll. Hosp., London (England). — [2] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **288**, 228 (1951); vgl. diese Z. **139**, 155 (1953).

K. Machner

Eine schnelle Methode zum Nachweis von Thallium im Harn und Serum bei *Vergiftungen* geben F. Rappaport und F. Eichhorn[1] an. Die Methode vermeidet die Zerstörung der organischen Substanz. Das Thallium wird mit zugesetztem Cadmium als Sulfid gefällt und nach Oxydation mit Rhodamin B nach Feigl nachgewiesen. — *Ausführung. I. Qualitative Probe.* In einem Spitzglas mischt man 100 ml frischen Harn mit 2 ml 2,5%iger Cadmiumsulfatlösung und einer Lösung von 0,25 g kristall. Natriumsulfid in 10 ml 4%iger Natronlauge. Den Niederschlag läßt man 1 Std oder über Nacht absetzen, dekantiert den Überstand, bringt den Niederschlag mit etwas Wasser in ein Zentrifugenglas und zentrifugiert. Nach Entfernen der überstehenden Flüssigkeit versetzt man den Niederschlag mit der doppelten Menge Salzsäure (1 : 1), entfernt den Schwefelwasserstoff durch Absaugen und fügt Bromlösung (siehe unten) bis zur Gelbfärbung zu, die 5 min bestehen bleiben muß. Der Bromüberschuß wird dann mit einem Gemisch von 1 Teil gesätt. Sulfosalicylsäurelösung und 2 Teilen halbkonzentrierter Salzsäure entfernt. Überdosierung von Brom und Sulfosalicylsäure muß vermieden werden. Man setzt 0,2 ml 0,05%ige Rhodamin B-Lösung in konz. Salzsäure und wenige ml Benzol zu, schüttelt und zentrifugiert. Bei Anwesenheit von mehr als 2 μg Thallium in 100 ml Harn zeigt die

Benzolphase eine fluorescierende rote Farbe. — *II. Halbquantitative Probe.* In je ein Reagensglas gibt man 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 und 1,0 ml Thalliumstandardlösung (26 mg $TlNO_3$ im Liter) und 5 ml thalliumfreien Harn. In das nächste Glas kommen 5 ml des zu analysierenden Harnes. Die Ansätze werden genau wie oben behandelt mit der Ausnahme, daß das Brom durch Durchleiten von Luft in einem Wasserbad von 50° C beseitigt wird. Außerdem benutzt man hier 0,3 ml Rhodamin B-Lösung und schüttelt 2mal mit je 2 ml Benzol aus. Ist die zweite Benzolphase noch stark gefärbt, wiederholt man den Ansatz mit weniger Harn. Die Benzolphasen werden mit dem Klett-Summerson-Grünfilter 540 gegen Benzol als Blindwert photometriert. Unter diesen Bedingungen gibt die Standardlösung eine lineare Kurve mit 10—15% Streuung. Die Ablesungen entsprechen 2, 4, 8, 16 und 20 μg Thallium. Bei sehr niedrigen Thalliumkonzentrationen muß man auch hier 100 ml Harn nehmen wie bei der qualitativen Probe, und die Standardlösungen müssen auch mit 100 statt mit 5 ml Normalharn angesetzt werden. Wenn mehr als Spuren Eiweiß vorhanden sind, versetzt man 100 ml Harn mit einigen Tropfen Eisessig, erhitzt im kochenden Wasserbad und untersucht das Filtrat. — *III. Thalliumnachweis im Serum.* 5 ml Serum verdünnt man im Erlenmeyer-Kolben mit 25 ml Wasser, setzt 5 ml halbkonzentrierte Salzsäure zu, mischt und läßt 10 min im kochenden Wasserbad stehen. Nach Abkühlen klärt man durch Filtrieren oder Zentrifugieren, neutralisiert mit 27%iger Natronlauge und säuert wieder leicht an. Dann verfährt man wie unter I angegeben. — *Bromlösung.* Man löst 10 g Natriumbromid in 10 ml Wasser, setzt das doppelte Volumen halbkonzentrierte Salzsäure und dann 2,5 ml Brom zu.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **2**, 16—20 (1957). Beilinson Hosp., Petah Tikva (Israel). E. Müller, Würzburg

Zur raschen und genauen Bestimmung von Kohlenoxyd im Blut zersetzen E. A. Gaensler, J. B. Cadigan, jr., M. F. Ellicott, R. H. Jones und A. Marks[1] die abgemessene Probe in einer van Slyke-Apparatur bei hohen Konzentrationen (> 2,5 ml CO/100 ml) mit einer sauren Hexacyanoferrat(III)-lösung (92 Teile 32%ige $K_3Fe(CN)_6$-Lösung + 8 Teile konz. Milchsäure), bei niedrigeren Konzentrationen mit 5%iger Schwefelsäure und messen die Konzentration des frei gewordenen und mit Luft verdünnten Kohlenoxyds mit einem Infrarotgerät gegen trockene Luft als Bezugsgas. Die Eichung erfolgt mit Luft-Kohlenoxydmischungen, die 0,289—0,023% CO enthalten. Blindproben brauchen nicht durchgeführt zu werden, CO_2 stört nicht merklich.

[1] J. Lab. clin. Med. **49**, 945—957 (1957). Univ. Boston, Mass. (USA). G. Denk

Blei in biologischem Material *(Blut, Urin)* bestimmen R. Fabre, R. Truhaut und C. Boudène[1] auf polarographischem Wege. Zur Abtrennung von störenden Begleitmetallen fällen sie vorher das Blei gemeinsam mit Strontium als Sulfat und lösen den Niederschlag mit Ammoniumcitratlösung wieder auf. — *Arbeitsweise.* In einem Quarztiegel vermischt man 5 ml *Blut* mit 5 ml 20%iger wäßriger Magnesiumnitratlösung, dampft auf einem 200° C heißen Sandbad ein und verascht 3 Std in einem Muffelofen bei 490—500° C. Den fast weißen Rückstand nimmt man in 1 ml konz. Salpetersäure auf, läßt auf dem Sandbad trocknen und stellt noch 1 Std in den Muffelofen. Ist *Urin* zu untersuchen, so fügt man zu 50 ml 2 ml Magnesiumnitratlösung, dampft in Anteilen von 15—20 ml in einem Quarztiegel ein, am besten durch Oberflächenheizung mit einem Infrarotstrahler, und verascht wie bei Blut. Die Asche löst man in 1 ml Salpetersäure und 2 ml Wasser durch Erwärmen auf dem Wasserbad, überspült mit 2mal 1 ml Wasser in ein zylindrisch-konisches Zentrifugenglas, in dessen spitzen Boden ein Platinnagel als Elektrode eingeschmolzen ist, fügt der Reihe nach 4 ml einer 5%igen Lösung von krist. Natrium-

sulfat, 0,8 ml 1%ige Strontiumnitratlösung und nach Vermischen 5 ml 96%igen Äthylalkohol hinzu, läßt wenigstens 3 Std stehen, zentrifugiert, wäscht 2mal mit je 5 ml 5%iger Natriumsulfatlösung, löst die Fällung in 0,8 ml 30%iger Ammoniumcitratlösung unter Erwärmen auf dem Wasserbad, verdünnt auf 2 ml und säuert mit Eisessig auf einen p_H-Wert von 4,5 an. Das Zentrifugenglas setzt man in den abgebildeten Glasbehälter (Abb. 1), durchspült die Lösung 5 min mit möglichst sauerstoffarmem Stickstoff und polarographiert. Sodann fügt man durch den Tubus *a* im Glasdeckel ein gemessenes Volumen Bleinitratlösung (100 μg Pb/ml), welches weniger als $^1/_{50}$ vom Volumen der Analysenlösung betragen soll, hinzu und polarographiert wieder. Die durch den bekannten Bleizusatz bewirkte Erhöhung der Stufe dient dazu, den Bleigehalt der Analysenlösung zu berechnen. Die untere Erfassungsgrenze geben die Verff. mit 0,5 μg Pb (10 μg Pb in 100 g Probe), die Reproduzierbarkeit mit 5% an. — Um die Chemikalien bleifrei zu machen, destilliert man die flüssigen in Quarzgefäßen, während man die Salze als wäßrige Lösungen mit Dithizonlösung in Chloroform ausschüttelt. Die Geräte reinigt man durch Spülen mit warmer Salpetersäure, Wasser und danach mit Dithizonlösung in Gegenwart von Ammoniumacetatpufferlösung vom p_H 9,0.

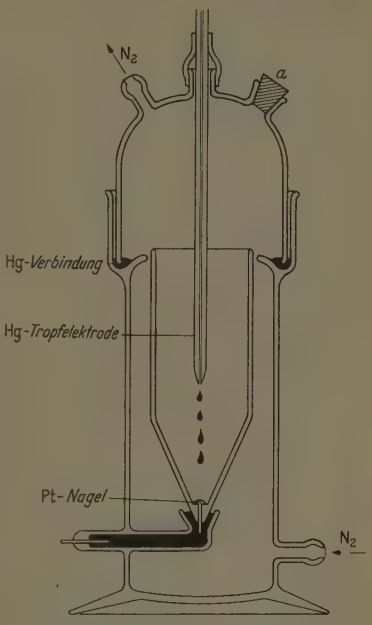


Abb. 1. Polarographiergefäß nach Fabre u. Mitarb.

[1] Chim. analytique **39**, 285—288 (1957). F. Neumann

Über den papierchromatographisch ermittelten Gehalt von Phosphorverbindungen in der säurelöslichen Fraktion des menschlichen Blutes berichten M. Rohdewald und M. Weber[1]. — *Bestimmungsmethode.* Das Trichloressigsäureblutfiltrat wird mit Äther von überschüssiger Trichloressigsäure befreit (End-p_H 6) und auf Papier aufgetragen, das mit einer 0,2%igen Lösung von äthylendiamintetraessigsaurem Natrium (ÄDTA) nach L. V. Eggleston und R. Hems[2] gewaschen worden ist. Es wird über Nacht aufsteigend bei + 6° C mit einem Gemisch aus Isopropyläther und 88%iger Ameisensäure (60:40) chromatographiert und anschließend 24 Std absteigend bei 25° C mit dem Gemisch n-Propanol-konz. Ammoniak-Wasser-0,1 m ÄDTA-Lösung[3] (30:15:5:0,1). Für das aufsteigende Verfahren benutzen die Verff. eine besondere, in einer Abbildung wiedergegebene Vorrichtung zum Aufhängen des zu einem Zylinder gerollten Bogens. Das anorganische Phosphat wird durch Besprühen mit dem Molybdänreagens von C. S. Hanes und F. A. Isherwood[4] sichtbar gemacht, das organische durch Bestrahlen mit UV-Licht von 254 mμ. Zur Bestimmung werden die Areale ausgeschnitten und mit 0,5 ml einer Mischung aus 3 Teilen konz. Schwefelsäure und 2 Teilen Perchlorsäure (D 1,54) im Quarztiegel verascht[2]. Gleich große Papierstücke ohne Substanz werden für die

Leerbestimmung ebenso behandelt. Die Phosphatbestimmung erfolgt dann nach I. Berenblum und E. Chain[5] bei 750 mμ. Die bei verschiedenen Versuchspersonen gefundenen Werte schwanken, in Milligrammen Phosphor/100 ml Blut ausgedrückt, für *anorganisches Phosphat* zwischen 1,4 und 3,0; für *2,3-Diphosphoglycerinsäure* (2,3-PGS) zwischen 4,5 und 8,5; für *1,6-Fructosediphosphat* (FDP) zwischen 0,7 und 4,4; für *ATP* zwischen 3,0 und 5,7 und für *Gesamtphosphat* zwischen 12,1 und 18,1. Der letzte Wert entspricht etwa 50% des durch Veraschung ermittelten Gesamtphosphatgehaltes des Blutes. Der Prozentgehalt der säurelöslichen Fraktion an den einzelnen Komponenten ist 14,1% anorgan. P, 39,6% 2,3-PGS, 18,6% FDP und 27,7% ATP. Im Gegensatz zu anderen Autoren finden Verff. kein ADP.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **306**, 90—95 (1956). Max-Planck-Inst. Ernährgs.-Physiol., Dortmund u. physiol.-chem. Inst., Univ. Bonn. — [2] Biochemic. J. **52**, 156 (1952); vgl. diese Z. **144**, 79 (1955). — [3] Fleckenstein, A., und E. Gerlach: Arch. exp. Path. Pharmakol. **219**, 531 (1953); vgl. diese Z. **144**, 79 (1955). — [4] Nature **164**, 1107 (1949); vgl. diese Z. **138**, 386 (1953). — [5] Biochemic. J. **32**, 295 (1938); vgl. diese Z. **134**, 148 (1951/52). E. Müller, Würzburg

Bestimmung von Tellur in Urin. Nach C. K. Hanson[1] lassen sich Mikrogrammmengen Tellur mit n-Amylalkohol aus 1 n sauren Lösungen, die 0,6 n an Jodid sind, extrahieren. Den gewaschenen Extrakt dampft man ein, löst das zurückbleibende, reine Tellursalz in Salzsäure, fällt das Tellur in fein verteilter Form aus und bestimmt es photometrisch. Die Tellurbestimmung wird durch ebenfalls extrahierbare und reduzierbare Metalle wie Quecksilber, Gold, Palladium, Platin, Rhodium und Iridium gestört. 5—20 μg Tellur können mit einer Genauigkeit von ± 2% und besser bestimmt werden. — *Ausführung.* 200 ml Urin werden mit 50 ml konz. Salpetersäure auf ein Volumen von 15 ml eingedampft, dann mit 15 ml 70%iger Perchlorsäure zum Rauchen erhitzt und schließlich mit 25 ml 48%iger Bromwasserstoffsäure, die 10 ml Brom im Liter enthält, und mit 50 ml Wasser zur Entfernung von Selen destilliert. Die zurückbleibende wasserklare Lösung wird in einem 125 ml-Scheidetrichter mit Ammoniak neutralisiert; der entstandene Niederschlag wird mit 1—2 Tropfen Salzsäure wieder gelöst. Man versetzt die nunmehr 55—60 ml betragende Lösung mit 6 ml konz. Salzsäure, verdünnt auf 70 ml, setzt 6,6 g Natriumjodid zu und extrahiert 3mal mit je 20 ml-Portionen n-Amylalkohol, der mit der Hälfte seines Volumens an Äther versetzt ist. Man schüttelt jeweils 30 sec lang. Die Extrakte werden einzeln mit je 15 ml 1 n Jodwasserstoffsäure gewaschen und die vereinigten Waschlösungen wiederum mit 20 ml Amylalkohol-Äther extrahiert. Die 4 Extrakte werden in einem 250 ml-Becherglas vereinigt, auf 15—20 ml eingedampft und mit 30—40 ml Wasser und 5 ml 30%iger Wasserstoffperoxydlösung versetzt. Man dampft bei bedecktem Glas weiter auf dem Dampfbad ein bis der Alkohol verdampft ist. Die Flüssigkeitsmenge soll dabei immer 10—12 ml betragen und nötigenfalls mit Wasser ergänzt werden. Die abgekühlte Probe wird nun mit 10 ml konz. Salpetersäure, die 2 ml 70%ige Perchlorsäure enthält, vorsichtig in kleinen Portionen versetzt. Die Lösung wird bis zum Auftreten weißer Nebel eingedampft und anschließend vorsichtig bis zur Trockne gebracht. Zum Abdampfrückstand fügt man 3 ml konz. Salzsäure und 2 ml Wasser, anschließend 1 ml einer 10%igen Zinn(II)-chloridlösung in 20%iger Salzsäure. Die rote Lösung wird in einem 10 ml-Meßkolben zur Marke aufgefüllt und bei 440 mμ photometriert.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1204—1206 (1957). Univ. Salt Lake City, Utah (USA).
Klaus Brodersen

Eine autoradiographische Methode zur Bestimmung von $^{106}RuO_2$-Teilchen in Lungengewebe beschreiben N. L. Dockum und J. W. Healy[1]. — *Arbeitsweise.* Mäusen, denen 0,1%ige wäßrige, mittels Tween 80 bereitete Suspensionen von $^{106}RuO_2$ mit Teilchengrößen von 0,5—0,8 μ injiziert worden sind, entnimmt man nach 100—420tägiger Einwirkungsdauer und Töten der Tiere die Lungen, fixiert diese mit 70%igem Äthanol, entzieht dem Gewebe das Wasser mit konzentriertem Äthanol, bettet das Gewebe nach Extraktion mit Benzol in Paraffin ein und stellt mit dem Mikrotom Schnitte von je 5 μ Dicke her. Dann ermittelt man den ^{106}Ru-Gehalt jedes dritten Dünnschnittes mit einem Mica-Fensterzähler, bringt diese dann in destilliertes Wasser und befestigt sie auf einer Eastman Kodak NTB autoradiographischen Emulsion von 10 μ Schichtdicke. Nach 72stündiger Exposition bei 3° C in einer lichtdichten, Drierit enthaltenden Kammer löst man die Schnitte ab, entfernt das in ihnen enthaltene Paraffin durch je 5 min langes Extrahieren mit Xylol, dann mit Cellosolve und wäscht sie anschließend 5 min lang mit dest. Wasser. Die Entwicklung der exponierten Platten erfolgt durch 5 min dauernde Behandlung mit Eastman Kodak D 19-Entwickler bei 18° C, Waschen mit dest. Wasser und 30 min langes Fixieren mit Kodak-Fixierlösung. Mißt man den Durchmesser der durch ^{106}Ru auf jeder einzelnen Aufnahme erzeugten dunklen Flecken mit einem Okularmikrometer, so ist deren Summe proportional der an dem der Aufnahme entsprechenden Gewebeschnitt gemessenen Radioaktivität (Photos und Diagramm im Original).

[1] Stain Technol. **32**, 209—213 (1957). General Electric Comp., Richland, Wash. (USA). K. Söllner

Zur Bestimmung von Fettsäureestern in Blut- und Organfetten geben K. F. Gey und H. Schön[1] eine verbesserte Vorschrift für das Hydroxamsäureverfahren an. Die Extraktion der Lipide erfolgt nach bekannten Methoden (Literaturhinweise und kurze Beschreibung im Original). Dann werden die Lipide in Petroläther übergeführt und die Hydroxamsäuren aus den Fettsäureestern in einem Gemisch von Methanol-Diäthyläther mit einem kleinvolumigen Zusatz des in Natronlauge-Glykokollpuffer befindlichen Hydroxylamins gebildet. Zuletzt wird der Hydroxamsäure-Eisen(III)-komplex in einem durch Glykokoll abgepufferten, sauren Milieu colorimetriert. Aldehyde und Peroxyde müssen aus den verwendeten organischen Lösungsmitteln sehr sorgfältig entfernt werden, da die Methode andernfalls unbrauchbar werden kann. 1—50 Mikroäquivalente der Fettsäureester können auf $\pm$ 3% genau erfaßt werden. — *Ausführung.* 4 ml der auf die eine oder andere Art erhaltenen Serumextrakte bzw. Rückstände werden in ein definiertes Volumen eines Gemisches gleicher Volumina von aldehydfreiem Methanol und peroxydfreiem Diäthyläther übergeführt (in 10 ml Meßkolben). 4 ml dieser Lösung die 1—50 Mikroäquiv. Fettsäureester enthalten sollte, werden mit 1 ml eines Gemisches aus gleichen Vol. 3,5 m Natronlauge (mit 1 Mol Glykokoll im Liter) und 2 m Hydroxylaminhydrochloridlösung versetzt (eine gelegentlich auftretende Trübung läßt sich durch einige Tropfen aldehydfreien Methanols beseitigen) und 7 (bis 24) Std in der Dunkelheit bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Zur Colorimetrie kommen dazu 4 ml methanolischer Perchlorsäure (7,5 ml 47%iger Perchlorsäure mit 90%igem aldehydfreiem Methanol auf 100 ml verdünnt) und nach 1 min (spätestens 60 min) 1 ml 0,37 m Eisen(III)-chloridlösung (in 0,01 n Salzsäure). Man füllt mit 80%igem aldehydfreiem Methanol zur Marke auf und photometriert nach 2 oder 3 min, spätestens nach 60 min bei 530 oder 540 mμ gegen 75%iges Methanol. Nebenher laufen Leer- und Doppelstandardwerte (weitere experimentelle Einzelheiten im Original).

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **305**, 149—157 (1956). Max-Planck-Ges., Göttingen. H. Kathen

Über eine biologische Bestimmungsmethode von Acetylcholin in kleinen Stücken frischen Gehirngewebes berichten M. H. Aprison und P. Nathan[1]. In Anaesthesie entnommene Kaninchenhirnstücke werden sofort zwischen Trockeneis eingefroren, um die Acetylcholinesterase auszuschalten, und in Eserin—Wasser ($2 \cdot 10^{-4}$ Eserin) bei 0° C homogenisiert. Die weitere Behandlung erfolgt mit geringen Modifikationen nach den Angaben von G. A. Bentley und F. H. Shaw[2]. Das Homogenat wird zentrifugiert und im Überstand nach Zusatz von etwas Cholinchlorid in Anwesenheit von Alkohol Cholin-Acetylcholinreineckat (I) in der Kälte gefällt. I bringt man in Äthanol-Thyrode-Lösung (3:2) bei 30° C in Lösung, zentrifugiert vom Eiweiß ab und testet am Meerschweinchenileum aus. Entsprechend behandelte Blindansätze und Standardlösungen laufen mit. Es wird das „freie" Acetylcholin erfaßt, das sich noch in Stücken von 40—150 mg bestimmen läßt.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **66**, 388—395 (1957). State Res. Lab. Gohsburg, Ill. — [2] J. Pharmacol. exp. Therapeut. **106**, 193 (1952). E. Müller, Würzburg

Zur titrimetrischen Bestimmung der Milchsäure im Blut gibt I. A. Drževeckaja[1] eine vereinfachte Arbeitsweise an. Bei den Bestimmungsverfahren nach E. Friedemann und M. Cotonio oder O. v. Fürth und D. Charnass wird die vorherige Fällung der Kohlenhydrate verlangt. Diese Operation ist bereits von anderen Autoren als überflüssig gekennzeichnet worden; der Verf. hat bei 150 Bestimmungen nach Fürth-Charnass und 10 nach Friedemann-Cotonio gleich gute Resultate mit und ohne Fällung der Kohlenhydrate erhalten. Man fällt die Proteine nach M. Somogyi, P. A. Shaffer und A. F. Hartmann[2], oxydiert die Milchsäure mit $KMnO_4$ zu Acetaldehyd und titriert das Destillat mit Jod und Thiosulfat. — *Ausführung.* 2 ml Blut werden zu 16 ml saurer Zn-Lösung (12,5 g $ZnSO_4$ + 125 ml 0,25 n H_2SO_4 im Liter) gegeben. Man setzt tropfenweise 2 ml 0 75 n NaOH-Lösung hinzu, schüttelt und filtriert; die Lösung muß klar und farblos sein. Zu 8 ml des Filtrats werden 10 ml Wasser, 5 ml 10%iger $MnSO_4$-Lösung, 0,5 ml 25%iger Schwefelsäure und eine Messerspitze Talk gegeben. Man erhitzt zum Sieden und setzt tropfenweise 0,0025 n $KMnO_4$-Lösung hinzu. Der Acetaldehyd wird in 4 ml 0,5%iger $NaHSO_3$-Lösung + 20 ml Wasser aufgefangen. Zum Destillat werden einige Tropfen Stärkelösung und 0,1 n Jodlösung bis zur Blaufärbung gegeben; das Jod bindet den Überschuß an freiem Hydrogensulfit. Man entfärbt mit 0,1 n $Na_2S_2O_3$-Lösung, setzt etwas 0,005 n Jodlösung bis zur Blaufärbung und ein wenig $NaHCO_3$ hinzu, titriert das freigewordene Hydrogensulfit mit 0,005 n Jodlösung und berechnet die Milchsäure nach der einfachen Formel mg-% = n 0,225 · 20 · 100/2 · 8 (n = ml 0,005 n J-Lösung; 0,225 = Äquivalentzahl der Milchsäure).

[1] Laborat. Delo **3**, H. 4, 21—23 (1957) [Russisch]. Mediz. Stalin-Inst., — [2] Vgl. z. B. diese Z. **88**, 393 (1932); **111**, 458 (1937/38). A. v. Wilpert

Aminosäuren (Amine). *Zur quantitativen Analyse von Aminosäuregemischen* hat H. Rosen[1] die ursprünglich von W. H. Stein und S. Moore[2] angegebene Methode, die später von W. Troll und R. K. Cannan[3] und E. W. Yemm und E. C. Cocking[4] modifiziert worden ist, erneut umgearbeitet. Nachdem die Säuregemische säulenchromatographisch in ihre einzelnen Komponenten aufgetrennt worden sind, werden die Aminosäuren in den erhaltenen Fraktionen unter Verwendung von Ninhydrin als Farbreagens photometrisch bestimmt. — *Arbeitsweise.* 1 ml der Probelösung mit einem Aminosäuregehalt von 0,02—0,40 μMol wird mit 0,5 ml einer 0,0002 m NaCN-Lösung in Natriumacetatpuffer (s. unten). Man löst 27,00 g $CH_3COONa \cdot 3\,H_2O$ in 2 l Wasser, versetzt mit 500 ml Eisessig und verdünnt mit Wasser auf 7,5 Liter · 20 ml 0,01 m NaCN-Lösung (490 mg NaCN/l) werden mit der

Acetatpufferlösung auf 1 l verdünnt und 0,5 ml einer 3%igen Lösung von Ninhydrin in Methylcellosolve versetzt. Man erhitzt das Reaktionsgemisch (es soll p_H 5,0—5,2 anzeigen) 15 min im kochenden Wasserbad, gibt unmittelbar danach 5 ml eines Gemisches aus Isopropylalkohol und Wasser (1:1) zu, schüttelt kräftig, läßt auf Raumtemperatur abkühlen und mißt die Extinktion der erhaltenen Farbsalzlösung bei 570 mμ (zur Bestimmung von Prolin und Hydroxyprolin wird bei 440 mμ photometriert). Ein Blindversuch wird entsprechend durchgeführt. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Im angegebenen Konzentrationsbereich folgt die Kurve dem Beerschen Gesetz. *NaCN-Lösung.*

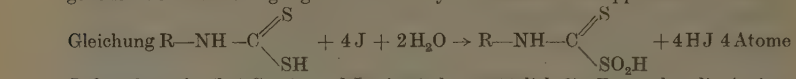
[1] Arch. Biochem. Biophysics **67**, 10—15 (1957). Walter Reed Army Inst. Res. Washington, D.C. (USA). — [2] J. biol. Chemistry **176**, 337, 367 (1948); vgl. diese Z. **136**, 438 (1952). — [3] J. biol. Chemistry **200**, 802 (1953); vgl. diese Z. **146**, 306 (1955). — [4] Analyst **80**, 209 (1955); vgl. diese Z. **149**, 318 (1956). K. Machner

Über die absteigende, zweidimensionale Papierchromatographie von 56 Aminoverbindungen in Phenol und Butanol-Essigsäure-Wasser (Partridge-Gemisch) berichtet T. E. Parry[1]. Bei den untersuchten Verbindungen handelt es sich meistens um *Aminosäuren* und einige *Amine* bzw. *Peptide.* — *Ausführung.* Zuerst läuft das Chromatogramm 24 Std mit Phenol (etwa 100 g Phenol werden geschmolzen und so lange mit Wasser versetzt, bis eine Trübung nach Umschütteln bestehen bleibt; man läßt 24 Std absetzen und benutzt die untere Phase; die obere, 10—15 ml, kommt mit 0,5 ml Ammoniak + 0,1 g Natriumcyanid auf den Boden der Kammer). In der zweiten Richtung läßt man mit n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) (organische Phase) bis zum unteren Papierrand laufen, um einen möglichst großen Trenneffekt zu erreichen. Für das zweite Lösungsmittel müssen daher die R_f-Werte anders berechnet werden. Verf. benutzt als Bezugssubstanz Alanin; dann ist der relative R_f-Wert: Wanderungsweg der Substanz/Wanderungsweg von Alanin (die Zahlenwerte können somit > 1 sein). Verf. verwendet Whatman-Papier Nr. 1. Die Lauftemperatur beträgt 23—25° C. Die fertigen Chromatogramme werden mit frisch zu bereitender 0,1%iger Ninhydrinlösung in Aceton besprüht und 15 min auf 80° C erhitzt. Soll die Färbung dauerhaft sein, behandelt man die Flecken nach E. Kawerau und Th. Wieland[2] mit Kupfernitrat, wobei Verf. Alkohol als Lösungsmittel durch Aceton ersetzt, da dann Diffusion vermieden wird. Untersucht man *Harn,* bringt man eine Probe aufs Papier, die 250 μg Stickstoff enthält, da die Werte so am besten reproduzierbar sind. Wird die Temperatur eingehalten, ist bei Harn und cytolysierten, abzentrifugierten roten und weißen Blutkörperchen Entsalzen nicht erforderlich. Bei Gesamtblut oder Plasma verbessert Entsalzen die Resultate. Die Methode leistet bei *klinischen Routineuntersuchungen* gute Dienste. Homologe Verbindungen liegen auf einer Kurve, so daß man unter Umständen auf die Natur eines unbekannten Stoffes schließen, bzw. die Lage einer unbekannten Verbindung voraussagen kann, womit die Befunde anderer Autoren bestätigt werden. Der Arbeit sind Abbildungen über die Lage der Flecken beigegeben.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **2**, 115—125 (1957). United Cardiff Hospitals, Penarth, Glam., Wales (Großbritannien). — [2] Nature (London) **168**, 77 (1951).
E. Müller, Würzburg

Eine Methode zur jodometrischen Bestimmung des Aminostickstoffes in Aminosäuren und Eiweißkörpern über die Dithiocarbaminderivate gibt J. Baraud[1] an. Bei schwach alkalischer Reaktion reagiert die freie Amino(Imino)-Gruppe mit Schwefelkohlenstoff unter Bildung des entsprechenden Dithiocarbaminates. Nur die α-Aminogruppe, die ε-Aminogruppe vom Lysin (nicht jede ω-Gruppe) und die

Aminogruppe von Prolin bzw. Hydroxyprolin geben die Reaktion unter den gegebenen Versuchsbedingungen. Bei der Oxydation der SH-Gruppe werden nach der



Gleichung $R{-}NH{-}C(=S){-}SH + 4\,J + 2\,H_2O \rightarrow R{-}NH{-}C(=S){-}SO_2H + 4\,HJ$ 4 Atome

Jod verbraucht (bei Cystin und Lysin sind es natürlich 8). Es werden die Aminosäuren *Glykokoll, Alanin, Leucin, Serin, Threonin, Methionin, Cystin, Cystein, Arginin, Lysin, Histidin, Asparaginsäure, Asparagin, Tryptophan, Tyrosin* und *Prolin* untersucht. Die Oxydation von Tryptophan durch Jod ist bei p_H 1,1 fast Null, so daß sie hier keinen Fehler bedingt. Da Peptidbindungen nicht reagieren, lassen sich auch die freien Aminogruppen in Eiweißkörpern titrieren. — *Ausführung. A. Aminosäuren.* 100 ml einer 0,01 m Aminosäurelösung bringt man mit 1 n Boratpuffer auf p_H 9,2—9,5, setzt 5 ml Schwefelkohlenstoff zu und erwärmt unter Rühren 2 Std am Rückflußkühler auf 50° C. Nach Verjagen des Schwefelkohlenstoffüberschusses im Vakuum füllt man mit Wasser auf 200 ml auf und erhält so eine 0,005 m Dithiocarbaminatlösung der entsprechenden Aminosäure. 50 ml 0,01 n Jodlösung säuert man mit 5 ml Eisessig an und rührt mit einem Magnetrührer. Dann setzt man tropfenweise 5 ml der 0,005 m Dithiocarbaminatlösung zu, was etwa 2 min beansprucht, und läßt noch 20 min reagieren. Den Jodüberschuß titriert man mit 0,01 n Natriumthiosulfatlösung zurück. Nur bei Prolin muß man nach 40 min wegen einer Nebenreaktion nochmals titrieren und den wahren Verbrauch durch Extrapolieren ermitteln. Dies Verfahren ist sowohl für Aminosäurengemische wie für Eiweißhydrolysate anwendbar. — *B. Proteine.* Man löst eine bekannte Menge, etwa 50 mg, in dem erforderlichen Lösungsmittel (Casein in 0,1 n Natriumacetatlösung; Zein in 72 gew.-%igem Alkohol; Globuline in 5 oder 10%iger Natriumchloridlösung; Albumine in Wasser). Das Volumen soll 20—25 ml nicht übersteigen. Nach Zugabe von 5 ml 0,5 m Boratpuffer (p_H 9,5) setzt man 2 ml Schwefelkohlenstoff zu und erhitzt 2 Std im Wasserbad am Rückflußkühler auf 50° C. Nach Abkühlen dekantiert man den Schwefelkohlenstoff und gibt die Lösung tropfenweise in 25 ml 0,01 n Jodlösung + 10 ml Eisessig, wobei kräftig mit dem Magnetrührer gerührt wird. Nach 20 min titriert man mit 0,01 n Natriumthiosulfatlösung zurück. Wenn bei dem vorliegenden p_H-Wert von 2 Proteine gefällt werden, so halten sie beträchtliche Mengen Jod zurück. Man setzt in diesem Fall noch 25 ml 0,01 n Natriumthiosulfatlösung zu, rührt 5 min und titriert mit 0,01 n Jodlösung den Thiosulfatüberschuß, was der Menge Jod entspricht, die von den Dithiocarbaminatgruppen verbraucht wird. Parallel dazu läuft ein Ansatz mit derselben Eiweißmenge, aber ohne Schwefelkohlenstoffbehandlung, um die Fehler auszuschließen, die durch Tryptophan oder Cystein bedingt sein könnten. — *Berechnung.* Werden a ml 0,01 n Jodlösung verbraucht, so ist $0{,}146 \cdot 2{,}5a$ = mg Lysin/100 g [Eiweiß zu 16% Gesamtstickstoff]. Der so erhaltene Lysinwert (für Casein 6,35%) stimmt gut mit Werten überein, die Verf. mit einer modifizierten Methode von F. Turba und E. Kofranyi[2] ermittelte.

[1] Bull. Soc. chim. France **1957**, 948—953. Fac. Sci. Bordeaux (Frankreich). — [2] Naturwissenschaften **34**, 57 (1947). E. Müller, Würzburg

Zur Bestimmung von Aminosäuren, Peptiden und proteolytischen Aktivitäten nach der Formaldehydmethode von Sørensen empfehlen W. Rademaker und J. B. J. Soons[1] die Mikrotitration der Probelösung in einer Photometerküvette. Auf diese Art können sehr kleine Mengen von NH_2-Gruppen in kleinen Lösungsvolumen genau erfaßt werden. — *Ausführung.* 0,25 ml der Testlösung werden in der Küvette mit 1 ml 33%iger Formaldehydlösung und 5 ml einer 0,001%igen Lösung von Phenolphthalein in einem Gemisch aus Äthanol und Wasser (1:10) versetzt und

mit 0,01 n Natronlauge bis zu einer bestimmten Farbtiefe des Indicators titriert (Mikrobürette). Der Titrationsendpunkt (p_H 9,0) wird durch die entsprechende Extinktion des Photometers angezeigt. Das beschriebene Verfahren ist besonders zur Untersuchung der proteolytischen Aktivität von Gewebehomogenaten und Zellfraktionen geeignet.

[1] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **24**, 209—210 (1957). Lab. Physiol. Chem., Univ. Utrecht (Niederlande). K. MACHNER

Eine polarographische Methode zur Bestimmung von Tyrosin sowohl für mg- als auch für μg-Größenordnung geben P.-E. WENGER, D. MONNIER und J. VOGEL[1] an. Das Verfahren beruht auf der polarographischen Reduktion der nitrierten Aminosäure. In Gemischen (Hydrolysaten) stören Verbindungen mit der SH-Gruppe und Tryptophan. Beide können mit Hg^{2+} gefällt und durch Zentrifugieren beseitigt werden. Bei großem Tryptophanüberschuß kann Tyrosin adsorptiv mitgefällt werden. Durch eine Art Austauschwirkung läßt sich die Fehlerquelle durch Zusatz von Phenylalanin beseitigen. Die K-Werte in mg/μA (11,45—12,57 bei verschiedenen Tyrosinkonzentrationen von 40,4—216,5 mg/l) zeigen, daß die Stufenhöhe eine streng lineare Funktion der Tyrosinkonzentration ist. — *Ausführung. a) mg-Mengen.* Man löst soviel von der Probe wie 10—30 mg Tyrosin entspricht in 30 ml 0,15 n Salpetersäure. Nach Zugabe von mindestens 6/8 des vorhandenen Tryptophangewichtes an festem Phenylalanin erhitzt man zu dessen besserer Lösung auf 50—60° C. Man gibt soviel Quecksilber(II)-acetatlösung (1 g in 50 ml 0,15 n Salpetersäure) zu, bis eine Trübung entsteht, erhitzt nochmals auf ~ 60° C und läßt 2 Std stehen. Nachdem man mit 0,15 n Salpetersäure im Meßzylinder auf ein bestimmtes Volumen oder im Meßkölbchen auf 50 ml aufgefüllt hat, zentrifugiert man 10 min bei hoher Tourenzahl, kocht einen aliquoten Teil mit 40 ml 0,15 n Salpetersäure 2 Std am Rückflußkühler. Nach dem Abkühlen neutralisiert man mit 20%iger Kalilauge und füllt im Meßkölbchen auf 50 ml auf. 7 ml dieser Lösung versetzt man mit 2 ml Puffer von p_H 5 (51,5 ml 0,2 m Na_2HPO_4-Lösung + 48,5 ml 0,1 m Citronensäure), füllt mit bidestilliertem Wasser auf 10 ml auf und polarographiert. Proben mit bekannten Tyrosinmengen behandelt man ebenso und erhält auf diese Weise eine Eichkurve. *b) μg-Mengen.* Eine Probe, die 10—70 μg Tyrosin enthält, wird in einem 12 cm langen Reagensglas mit Fingerkühler mit 0,5 ml 0,15 n Salpetersäure 2 Std bei 95° C nitriert. Nach dem Abkühlen neutralisiert man tropfenweise mit 20%iger Kalilauge, bis die praktisch ungefärbte Lösung gerade gelb wird. Man überführt die Lösung unter Nachwaschen mit einigen Tropfen bidestilliertem Wasser in ein bei 1 ml geeichtes Reagensglas und füllt zur Marke auf. Nach Zugabe von 0,4 ml Puffer von p_H 5 polarographiert man in einer Mikrozelle. Die Glasgeräte sollen mit Chromschwefelsäure gereinigt werden. Man fertigt auch hier eine Eichkurve an. Die Fehlerbreite beträgt bei 20—100 μg Tyrosin $\pm$ 5% und bei 10—20 μg $\pm$ 7%.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1957**, 405—416. Univ. Genf (Schweiz).
E. MÜLLER, Würzburg

Zur Bestimmung von L-Tyrosin im menschlichen Urin empfiehlt R. E. TASHIAN[1] die von S. UDENFRIEND und J. R. COOPER[2] angegebene photometrische Methode. Dazu muß das Tyrosin von allen störenden Substanzen abgetrennt werden. Es wird enzymatisch zu Tyramin abgebaut[3], das aus der Urinprobe mit Äthylacetat extrahiert und anschließend unter Verwendung von Nitrosonaphthol als Farbreagens colorimetrisch bestimmt werden kann. — *Ausführung.* 2 ml der Urinprobe (gegebenenfalls wird 1 ml Urin mit 1 ml Wasser verdünnt) werden in einer 60 ml-Glasstöpselflasche mit 0,5 ml einer Bakterienaufschlämmung (20 mg eines nach den

Angaben von H. M. R. Epps[3] sowie R. W. McGilvery und P. P. Cohen[4] bereiteten, acetongetrockneten Pulvers von Streptococcus faecalis werden kurz vor Gebrauch in 1 ml 0,7 m Citratpufferlösung suspendiert) und 0,5 ml 0,7 m Citratpufferlösung (p_H 5,5) versetzt. Man läßt das Reaktionsgemisch 2 Std bei 37° C stehen, kühlt ab und gibt 0,7 g Kochsalz zu. Die erhaltene Lösung wird mit 0,5 ml 1 n Natronlauge auf p_H 9—10 eingestellt und zur Extraktion des Tyramins 5 min mit 10 ml Äthylacetat kräftig geschüttelt. Man überführt einen aliquoten Teil (8—9 ml) des Extraktes in ein 15 ml-Zentrifugenglas, gibt 2 ml 1 n Salzsäure zu, schüttelt 2 min, entfernt die organische Schicht mit Hilfe einer Capillarpipette und bestimmt den Tyramingehalt der wäßrigen, salzsauren Lösung nach dem bereits früher beschriebenen Verfahren[2]. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Die Beleganalysen zeigen gute Übereinstimmung mit den erwarteten Werten.

[1] Clin. Chemistry **3**, 106—109 (1957). Columbia Univ., New York, N.Y. (USA). — [2] J. biol. Chemistry **196**, 227 (1952); vgl. diese Z. **139**, 457 (1953). — [3] Epps, H. M. R.: Biochemic. J. **38**, 242 (1944). — [4] J. biol. Chemistry **174**, 813 (1948).

K. Machner

Eine Methode zur schnellen und exakten Trennung von anorganischem Jod von jodhaltigen Aminosäuren und deren schnelle Bestimmung mit der tracer-Methode (^{131}J) teilen P. Blanquet, G. Meyniel, J. Mounier und C. A. Tobias[1] mit. Die Anionenaustauscher Dowex 1 und 2 haben eine so große Affinität zu Jod, daß mit 0,1 n oder 0,2 n Salzsäure nicht einmal Jodspuren eluiert werden, wie Versuche mit ^{131}J ergeben haben. Die Versuche sind mit einem künstlichen Gemisch und mit Schilddrüsenhydrolysaten angestellt worden. Auch Thyroxin (T), Monojodtyrosin (MT) und Dijodtyrosin (DT) lassen sich gut trennen und nach Zugabe von wenig mit ^{131}J markierten entsprechenden Substanzen durch Aktivitätsbestimmung in üblicher Weise bestimmen. Eine Trennung von Trijodthyronin ist nicht möglich. — *Ausführung.* Dowex 1 oder 2 (200—400 mesh) wird mit 2 n Natronlauge behandelt und so lange mit Wasser gewaschen, bis der p_H-Wert des Waschwassers unter 8 sinkt. Man stellt eine Säule von $15 \times 1{,}5$ cm her und bringt das zu analysierende Gemisch von Jodid, T, MT und DT (Menge nicht angegeben, Ref.) direkt auf die Säule und wäscht mit $\sim$ 10 ml Wasser ein. Dann eluiert man mit 0,1 n oder 0,2 n Salzsäure und fängt bei einer Durchlaufgeschwindigkeit von 40—50 ml/Std in 1 ml-Fraktionen auf. Die Aminosäuren erscheinen bei beiden Harzen immer in der gleichen Reihenfolge, nur die Gipfel liegen verschieden. Bei Dowex 1 geht die Trennung schneller, aber sie ist nicht so vollständig wie bei Dowex 2, bei dem die Trennung länger dauert. Die Lage der Gipfel ist wie folgt: Dowex 1: T 10 ml, MT 30 ml, DT 50 ml; Dowex 2: T 30 ml, MT 50 ml, DT 100 bis 125 ml. — Danach behandelt man die Säule mit 0,2 n Natriumcarbonatlösung und 2 n Natronlauge (Menge nicht angegeben Ref.), eluiert dann mit 3 n Natriumbromidlösung und gewinnt so das gesamte Jodid einschließlich elementarem Jod.

[1] Bull. Soc. Chim. biol. **39**, 419—424 (1957). Fac. Méd. Pharm., Bordeaux (Frankreich).

E. Müller, Würzburg

Für die fluorimetrische Messung von 4-Amino-10-methyl-pteroylglutaminsäure (Amethopterin, I) in Plasma gibt M. V. Freeman[1] folgende Vorschrift: Man trennt das Plasma von Oxalatblut durch Zentrifugieren ab, verdünnt hiervon 1 ml mit 7 ml Wasser, mischt, setzt tropfenweise unter ständigem Rühren 2 ml 15%ige Trichloressigsäurelösung zu und zentrifugiert wieder. 5 ml der überstehenden Flüssigkeit versetzt man mit 1,0 ml 3,24%iger Natronlauge, dann mit 0,1 ml 5 m Acetatpuffer p_H 5, mischt und ermittelt in einem Spektrophotofluorimeter nach Anregung mit einer Strahlung von 370 mμ die Fluorescenz bei 450 mμ (A). Dann fügt man 0,05 ml 4%ige Kaliumpermanganatlösung, nach 5 min 0,1 ml 3%ige

Wasserstoffperoxydlösung zu, mischt und bestimmt nach weiteren 3 min erneut die Fluorescenz (B). Die gleiche Prozedur führt man mit einer I-freien Plasmaprobe aus. Nach den Gleichungen: B—A = Δ (Fluorescenzincrement). Δ der Analysenprobe — Δ der Blindprobe = Δ I. Δ I vergleicht man mit einer Standardkurve, die auf die gleiche Weise aus Plasmaproben bestimmt wird, die in 1 ml 0, 10, 20, 40, 60 und 70 μg I enthalten. Es lassen sich noch 5 μg I/ml Plasma erfassen (Diagramme und Tabellen im Original).

[1] J. Pharmacol. exp. Therapeut. **120**, 1—8 (1957). Nat. Cancer Inst., Bethesda, Md. (USA). K. Söllner

Eiweiß. *Über die gravimetrische Eiweißbestimmung* berichten P. Fleury und R. Eberhard[1]. Die Fehler, die bei der Hitzekoagulation in wäßrigem Milieu entstehen (Retention von Natriumchlorid [und anderen Salzen] und Verlust biuretgebender Substanzen durch Peptisation in das Filtrat hinein), werden durch einen „Kompromiß" ausgeschaltet. Außerdem haben die Verff. ein früheres Verfahren[2], bei dem die Hitzekoagulation in alkoholischem Milieu erfolgt, verbessert. Diese Methode ist exakter, aber die einfachere gibt gut übereinstimmende Werte (0 bis —2,2% Abweichung). — *Ausführung. In Wasser.* In einem 30 ml Zentrifugenglas mischt man 0,2 bis 2 ml Serum, Wasser, 2 ml gesättigte Natriumchloridlösung und soviel verdünnte Essigsäure bis Methylrot umschlägt ($\sim$ p_H 4,5), so daß ein Volumen von 10—12 ml resultiert. Das mit einem Wattestopfen verschlossene Zentrifugenglas erhitzt man 20 min in einem kochenden Wasserbad. Auf einem gewogenen Analysenfilter von 7 cm Durchmesser, das sich in einem Büchner-Trichter von 5 cm Durchmesser befindet und das somit einen schalenartigen Rand besitzt, saugt man nach vorherigem Anfeuchten ab. In 5 ml-Portionen spült und wäscht man mit 80 ml heißem Wasser nach. Dann entfettet man mit etwa 20 ml 95%igem Alkohol, von dem man immer 5 ml mit einer Pipette aufbringt und schließlich spült man mit $\sim$ 10 ml Äther nach. Man trocknet 1,5 Std bei 100—105° C, wägt und wiederholt dies bis zur Gewichtskonstanz. — *In Alkohol.* In ein 30 ml Becherglas (hohe Form) gibt man 1 ml Serum, 1 Tropfen Methylrotindicator, soviel verd. Essigsäure, bis der Indicator umschlägt ($\sim$ p_H 4,5), und in einem Guß 10 ml 95%igen Alkohol. Nachdem das Becherglas mit einem kleinen Behälter bedeckt ist, der kaltes Wasser enthält, bringt man den Inhalt auf einem siedenden Wasserbad 6—7 min zum Kochen. Dann filtriert man sinngemäß wie oben.

[1] Ann. pharmac. franç. **15**, 81—89 (1957). Fac. Pharmac. Paris und Centre techn. Coop. pharmac. franç. — [2] Fleury, P., J. Courtois und R. Eberhard: Bull. Soc. Chim. biol. **33**, 1900 (1951); vgl. diese Z. **139**, 159 (1953).
E. Müller, Würzburg

Methoden zur Herstellung stabiler Säulen von Calciumphosphat (Hydroxylapatit), die sich zum *Chromatographieren von Proteinen* eignen, werden von A. Tiselius, S. Hjertén und Ö. Levin[1] beschrieben[2]. Die Bedingungen zur spezifischen Elution von Proteinen werden mitgeteilt. Die Elution erfolgt durch stufenweises oder kontinuierliches Ansteigen der Konzentration des Eluenten, eines Phosphatpuffers konstanten p_H-Wertes, sowie durch Verdrängung. 8 Proteine *(Phycoerythrin, Phycocyanin, Serumalbumin, Ovalbumin, Lysozym, Protaminsulfat, Hämocyanin* und *γ-Globulin)* mit Molgewichten zwischen 10000 und einigen Millionen werden chromatographiert. — *Säulenmaterial.* Aus 0,5 m Calciumchlorid- und 0,5 m Dinatriumhydrogenphosphatlösung erhält man bei Zimmertemperatur hauptsächlich Brushit ($CaHPO_4 \cdot 2\,H_2O$), der jedoch bei p_H-Werten über 7 unter Freiwerden von Phosphorsäure in Hydroxylapatit [$Ca_5(PO_4)_3OH$] übergeht. In neutralem Medium kann Brushit mit Erfolg angewendet werden. Für die vorliegende Arbeit ist im wesentlichen Hydroxylapatit verwendet worden, dessen

genaue Herstellungsvorschrift angegeben ist. Für die Säulen (150×15 mm) dienen gewöhnliche chromatographische Röhren mit einem angeschmolzenen Reservoir entweder aus Glas oder zur Beobachtung im UV-Licht aus Quarz. Um eine konstante Fließgeschwindigkeit (15—20 ml/Std) zu erreichen, wird das Säulenmaterial nach dem Einfüllen mit einem Druck von etwa 0,1—0,2 kg/cm² zusammengepreßt. Der Wassergehalt der Säule liegt bei etwa 70%. Die Elution erfolgt mit Phosphatpuffern stufenweise oder kontinuierlich gesteigerter Konzentration bei konstantem p_H-Wert. Die einzelnen Fraktionen werden automatisch nach konstanten Zeiten geschnitten und gesammelt. Die Versuche werden im allgemeinen in einem Kühlraum von +4° C ausgeführt. Die Vor- und Nachteile der verschiedenen Elutionsweisen werden ausführlich diskutiert. Beim Arbeiten in Quarzsäulen gelingt es, die Proteinzonen im reflektierten UV-Licht sichtbar zu machen und zu photographieren. Auch eine Fernseheinrichtung hat sich als sehr gut brauchbar erwiesen. — Die *Versuchsergebnisse* an den oben genannten Proteinen werden ausführlich beschrieben. In der Diskussion sind die Unterschiede gegenüber der gewöhnlichen Chromatographie auf Grund der hohen Molekulargewichte der Proteine hervorgehoben: a) die Elution ohne allzugroße „Schwanzbildung" ist nur bei verhältnismäßig hohen R_f-Werten möglich; b) die R_f-Werte sind im allgemeinen sehr empfindlich gegen Konzentrationsänderungen des Eluenten; c) gegenseitige Verdrängungseffekte spielen eine wichtige Rolle und ergeben oft eine bessere Trennung, als nach der angewandten Elutionsmethode zu erwarten wäre.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **65**, 132—155 (1956). Inst. Biochemistry, Uppsala (Schweden). — [2] Vgl. auch diese Z. **150**, 150 (1956). D. Jentzsch

Über die Chromatographie von Eiweißkörpern an Anionenaustauschern berichten H. G. Boman und L. E. Westlund[1]. Mit Dowex 2 und Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan-hydrochlorid (THAM-HCl) als Puffer und Eluent lassen sich Proteine gut trennen. Dabei handelt es sich wahrscheinlich hauptsächlich um einen Ionenaustauschvorgang (Cl^-), der von einer nicht idealen Protein-Proteinverdrängung beeinflußt wird. Die Kapazität für Serumalbumin beträgt bei p_H 7,3 etwa 0,5 mg/ml Harz. Die Ionenstärke ist gering, und die Ergebnisse mit THAM-HCl können nicht auf andere Puffersysteme übertragen werden. Die Proteine werden durch ihre Extinktion bei 280 mμ, Hämoglobin wird bei 540 mμ bestimmt. Bei Enzymen (saure und alkalische Phosphatase aus Blut, saure Phosphatase aus Meerrettich und Peroxydase aus Meerrettich) wird noch ihre Aktivität ermittelt. — *Ausführung der Chromatographie.* Dowex 2 mit 8—10%iger Vernetzung und von 200—400 mesh wäscht man mit 1 n Salzsäure unter Rotieren in einer Flasche, die mit der Wasserstrahlpumpe evakuiert worden ist, um möglichst alles Gas zu entfernen. Anschließend wäscht man durch Schütteln mit der doppelten Menge Wasser in einem Meßzylinder und dekantiert nach einigen Minuten. Im allgemeinen benutzen Verff. Säulen von 48×2,2 cm mit 180 ml Harz. Die Säulen wäscht man zuerst mit etwa der Hälfte des toten Raumes 0,2 m Pufferlösung (siehe unten) und dann mit der 6—8fachen Menge des toten Raumes von dem Puffer, mit dem die Chromatographie beginnt. Die Säulen werden mit 1 n Salzsäure regeneriert und reichen für etwa 23 Trennungen. Der Fraktionssammler ist auf Zeit eingestellt; meistens wählen Verff. 30 min. Dabei ergeben sich mit obiger Säule bei 70 cm Wasserdruck Fraktionen von 6,0—6,5 ml. Man bringt die Proteine mit 0,04 m Pufferlösung auf die Säule und steigert beim Eluieren die Molarität schrittweise, z. B. auf 0,08; 0,16 und 0,25 m. Den Abschluß bildet 1 n Salzsäure, womit gleichzeitig die Regeneration erfolgt. Beim Verdrängungsaustausch wäscht man die Proteine mit 0,02 m Puffer ein und eluiert mit 1 m Puffer. Sämtliche Untersuchungen werden bei 4° C durchgeführt. — *Pufferstammlösung.* 121 g THAM löst man in etwa 700 ml Wasser,

bringt mit konz. Salzsäure (~ 70 ml) auf p_H 7,3 und füllt auf 1 l auf. Aus dieser molaren Lösung stellt man alle benötigten Verdünnungen her.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **64**, 217—239 (1956). Univ. Uppsala (Schweden).
E. Müller, Würzburg

Die Serumeiweißfraktionierung mit Uranylacetat haben K. Dirr, P. Decker und H. Becker[1] in Abhängigkeit vom p_H-Wert, von der Uranylacetatmenge und der Serumkonzentration eingehend untersucht. Das p_H-Optimum für die vollständige Fällung liegt bei 5,1 (bei der Enteiweißung nach Neubauer stellt sich dieser optimale p_H-Wert automatisch ein). Bei p_H 5,1 reichen 4 ml 0,4%ige Uranylacetatlösung zur Ausfällung der Proteine aus 2 ml Serum in 10 ml Gesamtansatz gerade noch aus. Durch Anwendung einer zur vollständigen Fällung unzureichenden Uranylacetatmenge lassen sich aus menschlichem Mischserum bei p_H 3,25 als erste ausfallende Fraktion elektrophoretisch reine α_1-Globuline (5% vom Gesamtprotein) und bei p_H 4,3 als letzte ausfallende Fraktion elektrophoretisch reine γ-Globuline (9% vom Gesamtprotein) darstellen. Zur *Darstellung der α_1-Globulinfraktion* werden 4 ml einer Serumverdünnung 1:1 mit 4 ml 0,5%iger Uranylacetatlösung versetzt, mit Salzsäure auf p_H 3,2 eingestellt, mit dest. Wasser auf 10 ml verdünnt und zentrifugiert. Dabei werden nur 5% der Gesamtproteine gefällt. Das Protein im Niederschlag kann als papierelektrophoretisch einheitliches α_1-Globulin nachgewiesen werden. Zur *Darstellung der γ-Globulinfraktion* werden 4 ml der Serumverdünnung mit 4 ml 0,7%iger Uranylacetatlösung versetzt, mit Salzsäure auf p_H 4,3 eingestellt, auf 10 ml verdünnt und zentrifugiert. Unter diesen Versuchsbedingungen verbleiben etwa 9% des eingesetzten Proteins ungefällt im klaren Überstand und können als elektrophoretisch einheitliches γ-Globulin nachgewiesen werden.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **307**, 97—102 (1957). II. Med. Univ.-Klinik München. K. Machner

Zur Bestimmung der Albuminkonzentration in Serum empfehlen M. Lubran und D. W. Moss[1] eine Isotopenverdünnungsmethode, bei der ^{131}J-markiertes Albumin verwendet wird. Das radioaktive Albumin bekannter spez. Aktivität wird zu dem Testserum gegeben und man bestimmt die spez. Aktivität des erhaltenen Albumingemisches. Nachdem dann die Proteinkonzentration des zugesetzten radioaktiven Albumins in einem getrennten Versuch festgestellt worden ist, kann die Albuminkonzentration des Testserums rechnerisch ermittelt werden. — *Ausführung.* Zur Herstellung von ^{131}J-markiertem Albumin werden 1—2 ml „carrier"-freie NaJ-Lösung, die etwa 1 Millicurie ^{131}J enthält, mit 1 ml 0,1%iger KJ-Lösung, 0,5 ml 0,2%iger KJO_3-Lösung und 0,2 ml 2 n Schwefelsäure versetzt. Diese Lösung wird mit Hilfe einer Pasteurpipette zu einer Albuminlösung gegeben (man löst 0,7—0,8 g Albumin in einem Gemisch aus 5 ml 0,9%iger NaCl-Lösung und 1 ml 1 n Ammoniak). Man mischt gut durch, läßt das Reaktionsgemisch 10 min stehen, gibt anschließend 0,2 ml 20%ige KJ-Lösung zu und läßt weitere 20 min stehen. Die nun erhaltene Proteinlösung wird durch eine Austauschersäule (⌀ 1 cm) filtriert, die bis zu einer Höhe von 5—7 cm mit trockenem Amberlite IRA-400 (Cl-Form) beschickt ist. Mit dest. Wasser wird nachgewaschen, bis etwa 15 ml Eluat erhalten werden. Die so erhaltene Albuminlösung enthält etwa 5% Protein und etwa 30% der zugesetzten Radioaktivität und ist bei —20° C mindestens 3 Wochen haltbar. — Zur Bestimmung der Albuminkonzentration im Testserum werden 0,20 ml des Serums in einem 10 ml-Zentrifugenglas mit 0,10 ml der radioaktiven Albuminlösung, 5,70 ml wäßriger Na_2SO_3-Lösung (57,4 g $Na_2SO_3 \cdot 7\,H_2O$ auf 100 ml) und 1,0 ml Äther versetzt, mindestens 20 sec kräftig geschüttelt und anschließend 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Ein aliquoter Teil (4,00 ml) der unteren klaren Lösung wird mit Hilfe einer Pipette entnommen und mit 2,0 ml Biuretreagens versetzt [man

löst 6 g $NaKC_4H_4O_6$ und 1 g KJ in 50 ml dest. Wasser, gibt 50 ml 6%ige Kupfersulfatlösung ($CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$) zu und verdünnt mit 10%iger Kalilauge auf 1 l]. Man wartet 10 min und mißt dann die optische Dichte der erhaltenen Farbsalzlösung in einem lichtelektrischen Colorimeter bei 520 mμ oder unter Verwendung von Grünfilter. Das Instrument wird vorher mit einer Blindlösung, die 4 ml der Na_2SO_3-Lösung und 2 ml Biuretreagens enthält, auf den Nullpunkt eingestellt. Anschließend wird in einem aliquoten Teil (1—5 ml) der Farbsalzlösung, der mit Wasser auf 6 ml verdünnt worden ist, die Radioaktivität bestimmt (die Impulsrate soll etwa 10000 Imp./min betragen). Dabei ist die Untergrundstrahlung, die unter Verwendung der Blindlösung ermittelt wird, zu berücksichtigen. Aus dem Verhältnis der Impulsrate zur optischen Dichte ergibt sich die spez. Aktivität. Ein Kontrollversuch wird mit 0,30 ml der radioaktiven Albuminlösung entsprechend angesetzt und in der beschriebenen Weise durchgeführt. Die Albuminkonzentration des Testserums errechnet sich nach der Gleichung: % Serumalbumin $= (K/T - 1) \cdot A/2$. Dabei ist K die spez. Aktivität des radioaktiven Albumins, die im Kontrollversuch bestimmt, T die spez. Aktivität des Albumingemisches, die im Hauptversuch ermittelt worden ist, und A die Proteinkonzentration der radioaktiven Albuminlösung. A wird in einem getrennten Versuch nach der Biuretmethode bestimmt.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) 2, 246—251 (1957) West Middlesex Hospital, Isleworth, Middlesex (England). K. Machner

Papierelektrophorese von Serumproteinen. L. P. Ribeiro, L. A. Abreu und R. R. Abreu[1] haben nach einer eigenen Methode[2] papierelektrophoretisch in Veronalpufferlösung (p_H 8,6, Ionenstärke 0,05, 10° C) quantitativ den Gehalt an Serumproteinen im Blut von während 60 Tagen mit zusätzlich je 20 mg Thioharnstoff gefütterten Ratten bestimmt und mit der Serumanalyse normal gefütterter Tiere nach derselben Methode verglichen. Die mittleren Fehler der Bestimmungen schwanken bei den einzelnen Proteinen zwischen 4 und 26% relativ bzw. 8 und fast 30% des Gehaltes in Gramm/100 ml, wobei größte Fehler beim α_2-Globulin auftreten, bei dem aber trotz seines geringen Gehalts eine deutliche Abnahme beim Tierversuch bewiesen wird, während der γ-Globulingehalt steigt.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) 2, 252—253 (1957). Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro (Brasilien). — [2] Abreu, L. A., L. P. Ribeiro und R. R. Abreu: im Druck. K. Cruse

Eine Schnellmethode zur colorimetrischen Bestimmung von Isonicotinsäurehydrazid (INH) in Blutserum beschreibt V. Scardi[1]. Man mischt in einem Zentrifugenglas 1 ml Blutserum mit 2 ml Wasser, gibt 1 ml 0,05n Essigsäure zu, erhitzt nach gutem Durchmischen 2—3 min auf dem siedenden Wasserbad und zentrifugiert 10 min lang mit 3000 U/min. 2 ml der blanken überstehenden Flüssigkeit neutralisiert man durch Zusatz von 1,5 ml McIlvaine-Puffer von p_H 6,5 (siehe unten), dann gibt man 0,5 ml einer 0,2%igen Lösung von Natriumpentacyanoamminferrat in 0,02n Ammoniak zu, mischt und bestimmt die Extinktion des nach 10 min langem Stehen sich bildenden gelben Farbstoffes im Beckman-Spektrophotometer in einer 1 cm-Küvette bei 430 mμ gegenüber einem Blindansatz, bei dem das Serum durch Wasser ersetzt ist. Durch Vergleich mit einer Eichkurve, die sinngemäß durch Verwendung von Serum mit bekannten INH-Konzentrationen hergestellt wird, läßt sich der INH-Gehalt des Analysenmateriales ermitteln. Es können Mengen von 10—50 μg INH mit einem Fehler von $\pm$ 0,423% bestimmt werden. McIlvaine-Puffer: Man mischt 14 ml einer Lösung von 35,5 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$/1000 ml mit 6 ml einer Lösung von 21,0 g Citronensäure ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$)/1000 ml.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) 2, 134—139 (1957). Univ. Neapel (Italien). K. Söllner